

PCEM1

Biologie cellulaire

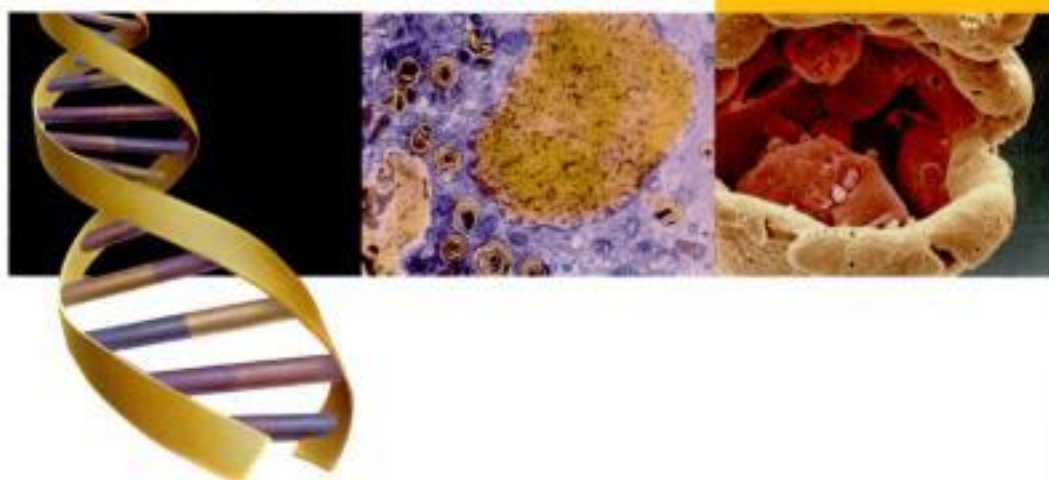
Marc Maillet

Avec la collaboration de M. Lemullois

► L'essentiel
du cours

► 350 QCM et
QROC corrigés

*10^e édition
entièrement refondue*



MASSON

Copyrighted material

Biologie cellulaire

This One



SGSH-AUC-EB85

Copyrighted material

CHEZ LE MÊME ÉDITEUR

Sciences humaines et sociales, par S. BIMES-ARBUS, Y. LAZORTHES, D. ROUGÉ et coll., Collection *Abrégés PCEM 1*, 2006.

Biochimie génétique, biologie moléculaire, par É. CLAUSER, J. ÉTIENNE, C. HOUSSET, P. ROINGEARD, Collection *Abrégés PCEM 1*, 9^e édition, 2006.

Physiologie, par J.-L. ADER, F. CARRÉ, A. T. DINH-XUAN, M. DUCLOS, N. KUBIS, J. MERCIER, F. MION, C. PRÉFAUT, S. ROMAN, Collection *Abrégés PCEM 1*, 2^e édition, 2006.

Histologie. Les tissus, par J. POIRIER, M. CATALA, J.-M. ANDRÉ, R. GHERARDI, J.-F. BERNAUDIN, Collection *Abrégés PCEM 1*, 3^e édition, 2006.

Embryologie. Développement précoce chez l'humain, par M. CATALA, Collection *Abrégés PCEM 1*, 3^e édition, 2006.

Biomathématiques, par S. BÉNAZETH, M. BONIFACE, I. NICOLIS, V. LASSERRE, C. DEMARQUILLY, M. LEMDANI, Collection *Abrégés cours+exos*, 2^e édition, 2004.

Chimie analytique – chimie des solutions, par M. BELJEAN-LEYMARIE, J.-P. DUBOST, M. GALLIOT-GUILLEY, Collection *Abrégés Pharma 1*, 2006.

Chimie organique, par H. GALONS, Collection *Abrégés cours+exos*, 2^e édition, 2003.

Chimie physique, par Ph. COURRIÈRE, G. BAZIARD, J.-L. STIGLIANI, Collection *Abrégés cours+exos*, 2002.

Évolution de l'organisation animale, par J. BAILENGER, Collection *Abrégés cours+exos*, 2001.

Chimie générale, par G. GERMAIN, R. MARI, D. BURNEL, Collection *Abrégés cours+exos*, 2001.

Probabilités et statistique, par A.-J. VALLERON, Collection *Abrégés cours+exos*, 2001.

Initiation à la connaissance du médicament, par J.-M. AIACHE, S. AIACHE, R. RENOUX, Collection *Abrégés cours+exos*, 2001.

Biologie cellulaire

Marc Maillet

*Avec la collaboration de Michel Lemullois
Maître de conférences à la faculté de médecine Paris-XI*

*Avec la collaboration de Christiane Maillet
pour les illustrations et la mise en page*

10^e édition

 **MASSON**



Ce logo a pour objet d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, tout particulièrement dans le domaine universitaire, le développement massif du « photocopillage ». Cette pratique qui s'est généralisée, notamment dans les établissements d'enseignement, provoque une baisse brutale des achats de livres, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.

Nous rappelons donc que la reproduction et la vente sans autorisation, ainsi que le recel, sont passibles de poursuites. Les demandes d'autorisation de photocopier doivent être adressées à l'éditeur ou au Centre français d'exploitation du droit de copie : 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris. Tél. : 01 44 07 47 70.

Maquette intérieure : Pascal Plottier

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays.

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et d'autre part, les courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (art. L. 122-4, L. 122-5 et L. 335-2 du Code de la propriété intellectuelle).

© 2006 Elsevier Masson S.A.S. Tous droits réservés

EAN: 978-2-294-01994-4

ISBN : 2-294-01994-6

ELSEVIER MASSON S.A.S. – 62, rue Camille-Desmoulins, 92442 Issy-les-Moulineaux Cedex

Table des matières

REMERCIEMENTS	1
AVANT-PROPOS	3
ABRÉVIATIONS	5
1. SCHÉMA GÉNÉRAL DES CELLULES PROCARYOTES ET EUCARYOTES	17
Les deux types de cellules	19
Les dimensions des cellules	19
Les cellules eucaryotes	19
Membrane cellulaire	19
Compartimentation	20
Cytosquelette	23
Cytosol	24
Les cellules procaryotes	24
Bactéries	24
Mycoplasmes	25
Cyanophycées	26
Les virus	26
Définition	26
Structure	27
Caractères des virus	27
Virus à ADN	28
Virus à ARN ou rétrovirus	28
Forme	28
2. LES TECHNIQUES D'ÉTUDE DE LA CELLULE	31
Les microscopes	31
Microscope optique ou photonique en lumière transmise	31
Microscope polarisant	32
Microscope à contraste de phase	32
Microscope à fluorescence	32
Microscope confocal à balayage	33
Microscope électronique à transmission (MET)	33
Microscope électronique à balayage (MEB)	34
Microscope électronique à haut voltage	35
Microscope à force atomique utilisant l'effet tunnel	35
Les techniques de préparations conventionnelles	35
En microscopie optique	35
En microscopie électronique	36
L'histochimie	37
Définition	37

Techniques utilisées en histochimie.....	38
Les sondes moléculaires	41
Définition.....	41
Sondes d'acides nucléiques	42
La quantification du fonctionnement cellulaire	43
Étude de la concentration ionique intracellulaire	43
Patch-clamp.....	44
Stéréologie.....	44
Quantification par informatique.....	44
Cytométrie à flux continu.....	45
Les cultures cellulaires	46
Les techniques de microdissection	46
Les techniques d'ultracentrifugation	47
Centrifugation zonale	47
Centrifugation isopycnique.....	47
Purification des fractions obtenues par les techniques d'immunologie	48
Les techniques de diffraction des rayons X	48
3. ORGANISATION DE LA MEMBRANE PLASMIQUE	50
Structure de la membrane plasmique	50
En microscopie électronique à transmission.....	50
Cryodécapage ou freezing-etching.....	51
Le concept actuel : modèle de Singer et Nicholson.....	51
Composition biochimique de la membrane plasmique	53
Techniques d'étude.....	53
Pourcentage relatif des divers constituants.....	54
Les lipides membranaires	54
Pourcentage relatif.....	54
Propriétés communes.....	54
Acides gras (AG).....	54
Phospholipides.....	55
Cholestérol.....	57
Glycolipides.....	57
Propriétés de la double couche lipidique.....	58
Synthèse des lipides membranaires.....	63
Les protéines membranaires	63
Définition.....	63
Pourcentage relatif.....	64
Protéines intramembranaires.....	64
Protéines périphériques.....	66
Mobilité des protéines.....	68
Glycosylation des protéines membranaires.....	70
Fonctions des protéines membranaires.....	70
Les glucides membranaires ou le <i>cell coat</i>	71
Résidus glucidiques.....	71
Pourcentage relatif.....	71
Mise en évidence du <i>cell coat</i>	71
Structure.....	72
Constituants du <i>cell coat</i>	72
Fonction du <i>cell coat</i>	74
Rapport de la membrane plasmique avec la matrice extracellulaire	76
Définition.....	76
Collagènes.....	76
Fibronectine.....	76
Lames basales.....	77
Protéoglycans.....	80

4. LES TRANSPORTS PERMÉATIFS DE LA MEMBRANE PLASMIQUE	84
Les transports passifs	84
Diffusion simple	84
Diffusion facilitée	86
Les pompes (transports actifs)	86
Définition	86
Rôle de transporteurs actifs primaires	86
Pompe à sodium	86
Les transporteurs	88
Définition	88
Propriétés	88
Mécanisme	88
Diffusion facilitée du glucose	89
Aquaporines	89
Systèmes de cotransports	90
Les canaux ioniques	91
Définition	91
Organisation moléculaire et fonctionnement	92
Propriétés des canaux ioniques	94
Canaux de fuite du potassium	94
Canaux ioniques voltage-dépendants	95
Canaux ioniques ligand-dépendants ou chimio-dépendants	96
Canaux ioniques CNG-dépendants (dépendant des nucléosides cycliques)	96
Canaux ioniques à ouverture mécanique	96
5. SPÉCIALISATIONS DE LA MEMBRANE PLASMIQUE	99
Les microvillosités	99
Microvillosités isolées	99
Microvillosités groupées	100
Les stéréocils	102
Structure	102
Disposition des stéréocils des cellules auditives	102
Composition de l'axe des stéréocils	102
Transformation des vibrations sonores en potentiel d'action	103
Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique basolatérale	104
Hémidésmosomes	104
Replis de la membrane plasmique basale	104
Jonctions et engrenements des faces latérales	105
6. LA MEMBRANE PLASMIQUE ET LES ÉCHANGES D'INFORMATIONS	108
Les molécules de signalisation intercellulaire	108
Définition	108
Caractères des molécules de signalisation	108
Molécules informatives hydrophiles	109
Molécules informatives hydrophobes	111
Les divers modes de communication intercellulaire	113
Signalisation endocrine	113
Signalisation paracrine	113
Signalisation synaptique	114
Signalisation contact-dépendante	114
Signalisation autocrine	114
Les récepteurs de la membrane plasmique	115
Classification	115
Famille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR)	115
Récepteurs-enzymes	116

Récepteurs couplés aux sphingomyélinases.....	123
Récepteurs des cytokines.....	124
Récepteurs canaux ioniques ligand-dépendants et voltage-dépendants.....	126
Autres récepteurs.....	126
7. LES MOLÉCULES D'ADHÉRENCE CELLULAIRE OU CAM	131
La superfamille des immunoglobulines (Ig-CAM).....	132
Définition.....	132
Structure.....	132
Les différents types d'Ig-CAM ou IgSF (superfamille des immunoglobulines).....	132
Fonctions.....	133
La superfamille des cadhérines.....	133
Définition.....	133
Fonctions.....	135
Pathologie.....	135
Les sélectines.....	136
Définition.....	136
Origine.....	136
Ligands des sélectines.....	136
Fonction.....	136
Les intégrines.....	137
Définition.....	137
Structure.....	138
Mode de fonctionnement.....	139
Fonctions.....	139
8. LES JONCTIONS INTERCELLULAIRES	142
Définition.....	142
Classification.....	143
La forme des jonctions intercellulaires.....	143
Les jonctions occlusives.....	144
Définition.....	144
Localisation.....	144
Structure en microscopie électronique.....	144
Contrôle de la jonction occlusive.....	146
Fonctions.....	147
Pathologie liée aux jonctions occlusives.....	148
Les jonctions d'ancrage.....	148
Les divers types de jonctions d'ancrage.....	148
Principales classes de protéines des jonctions d'ancrage.....	148
Jonctions adhérentes.....	148
Desmosomes.....	151
Les jonctions communicantes.....	155
Définition.....	155
Structure.....	155
Organisation moléculaire.....	156
Mode de fonctionnement des connexons.....	157
Fonction des jonctions communicantes.....	158
Les complexes de jonction.....	160
Les hémidesmosomes.....	161
Définition.....	161
Structure.....	161
9. LE CYTOSQUELETTE	166
Définition.....	166

Réparation de l'ADN	240
Gènes	243
Les ARN	245
ARNm	245
ARNt	245
ARNr	245
Transcription de l'ADN chez les procaryotes	246
Transcription de l'ADN chez les eucaryotes	248
L'enveloppe nucléaire	258
Définition	258
Membrane externe	259
Espace périnucléaire	260
Membrane interne	260
Complexes de pores nucléaires	260
Les échanges entre le noyau et le cytoplasme	263
Activité des pores	263
Système d'importation et d'exportation	264
Importation des protéines caryophiles	266
Exportation des protéines	267
Régulation des échanges	270
L'organisation du noyau	271
Compartiment interchromatinien	271
Matrice nucléaire	274
Le nucléole	280
Définition	280
Les constituants nucléolaires	281
Morphologie en microscopie optique	281
Morphologie en microscopie électronique	281
Organisation du nucléole	282
Fonctions du nucléole	284
Dynamique des nucléoles au cours du cycle cellulaire	288
11. LES CHROMOSOMES	297
Définition	297
Morphologie du chromosome mitotique	297
Variations de forme au cours du cycle cellulaire	297
Organisation moléculaire des chromosomes mitotiques	299
Les centromères	300
Définition	300
Domaine centromérique	301
Protéines centromériques	302
Protéines centromériques passagères	303
Séparation des centromères à la métaphase	303
Le kinétochore	303
Définition	303
Structure en MET	304
Mise en évidence des protéines kinétochoriennes	304
ADN centromérique, charpente du kinétochore	304
Moteurs moléculaires associés aux kinétochores	304
Fonctions des kinétochores	305
12. LE CYCLE CELLULAIRE	307
Définition	308
Les facteurs de croissance	308
La régulation du cycle cellulaire	309

Les microfilaments d'actine du cytosquelette	167
Définition	167
Généralités	167
Architecture moléculaire des MF	168
Actine G	168
Polymérisation des MF	169
Dépolymérisation des MF	172
Inhibiteurs de la polymérisation et de la dépolymérisation	172
Localisation des MF	172
Arp associées à l'actine	172
Protéines de liaison de l'actine	173
Faisceaux contractiles	176
Faisceaux serrés	179
Fonction des MF	181
Contrôle extracellulaire du cytosquelette d'actine	189
L'actine des fibres musculaires striées	190
Myofibrilles	190
Myofilaments épais	191
Myofilaments fins	192
Structure des myofibrilles	192
Mécanisme moléculaire de la contraction	194
Les filaments intermédiaires	195
Définition	195
Propriétés	196
Localisation	196
Constitution des filaments intermédiaires	196
Classification	197
Protéines associées aux filaments intermédiaires	201
Les microtubules	202
Définition	202
MT labiles	202
MT stables	203
Composition moléculaire	203
Structure des MT	204
Rapports des microtubules	204
Mécanisme de formation des microtubules	204
Protéines associées aux microtubules	206
Fonctions des microtubules	210
10. LE NOYAU	217
Définition	218
Structure	218
Caractères généraux	219
Variations de forme	219
Variations de volume	219
Variations de position	220
Cellules eucaryotes anucléées	220
La chromatine	221
Définition	221
Structure en microscopie optique	221
Fibres nucléosomiques (fibres chromatiniennes)	221
L'ADN nucléaire	228
Réplication de l'ADN : généralités	231
Réplication de l'ADN de procaryotes	232
Réplication de l'ADN des eucaryotes	237

Familles de protéines qui contrôlent le cycle.....	309
Points de contrôle du cycle cellulaire.....	312
L'interphase.....	313
Définition.....	313
Phase G ₁	314
Phase G ₀	320
Phase S.....	321
Phase G ₂	323
La phase M.....	325
Prophase.....	325
Prométaphase.....	328
Métaphase.....	331
Anaphase.....	334
Télophase.....	336
Cytodiérèse.....	337
L'apoptose.....	340
Définition.....	340
Mort accidentelle et mort programmée.....	340
Déroulement de l'apoptose.....	341
Altérations cellulaires provoquées par l'apoptose.....	341
Caspases : machinerie enzymatique de l'apoptose.....	342
Voies de la mort cellulaire.....	343
Système de dégradation apoptotique de l'ADN.....	347
Apoptose et cancer.....	348
Apoptose et sida.....	348
13. LES MITOCHONDRIES.....	352
Définition.....	353
Structure de la mitochondrie en microscopie optique.....	353
<i>In vitro</i> , après fixation.....	353
<i>In vivo</i> après coloration vitale.....	354
<i>In vivo</i> en microscopie en contraste de phase.....	354
Structure en ME et constitution biochimique.....	355
Organisation.....	355
Membrane externe.....	356
Chambre externe ou espace intermembranaire.....	357
Membrane interne.....	358
Matrice mitochondriale.....	362
Renouvellement des mitochondries.....	363
Fusion des mitochondries.....	364
Le génome mitochondrial.....	365
ADN mitochondrial.....	365
Gènes mitochondriaux.....	365
Mitoribosomes.....	366
Transmission du génome mitochondrial.....	366
Synthèse des protéines d'origine mitochondriale.....	366
Importation des acides aminés nécessaires aux synthèses.....	366
Synthèse de l'ARNmt.....	367
Activation des acides aminés.....	367
Formation de la chaîne polypeptidique.....	367
Cycle des synthèses protéiques.....	367
Importation des protéines dans les mitochondries.....	368
Signal d'adressage.....	368
Rôle des chaperonnes.....	368
Complexes d'importation des protéines cytosoliques.....	369

Devenir de la protéine importée	370
Importation des protéines dans l'espace intermembranaire.....	370
Importation des lipides	371
Phospholipides des membranes mitochondriales.....	371
Importation des acides gras dans la matrice	372
Fonctions des mitochondries	372
Respiration cellulaire	372
Fonctions de synthèse des mitochondries	378
Rôle des mitochondries dans la thermogénèse	379
Régulation du calcium cytosolique.....	379
Concentration de substances dans les mitochondries.....	379
Contrôle de l'apoptose	380
Phylogénèse des mitochondries	380
Pathologie d'origine mitochondriale	381
Mutations de l'ADNmt.....	381
Maladies liées à un dysfonctionnement mitochondrial.....	382
14. LE SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE	386
Choix et conditionnement des cargos	387
Les vésicules à manteau	387
Définition.....	387
Les trois types de vésicules à manteau	387
Identification des protéines à transporter	388
Les protéines de ciblage et d'ancrage	388
Protéines Rab.....	390
Protéines SNARE	392
Les vésicules COP II	393
Formation.....	393
La vésicule COP II au cours de son déplacement.....	395
« Accostage » de la vésicule.....	396
Recyclage des protéines.....	397
Les vésicules COP I	398
Composition des revêtements COP I	398
Protéines Arf.....	399
Fonctions de protéines Arf1	400
Dénudation des vésicules COP I.....	400
Signaux de recyclage	400
Transports dans l'appareil de Golgi.....	401
Les vésicules à clathrine	402
Définition.....	402
Molécules du manteau	402
Destination des vésicules à clathrine	404
Les voies suivies par les vésicules de transport	404
Voie biosynthétique et sécrétoire.....	404
Voie de l'endocytose	408
Flux membranaires.....	408
15. L'ENDOCYTOSE ET LES ENDOSOMES	413
L'endocytose	413
Phagocytose	414
Pinocytose	417
Cavéoles	425
Macropinocytose	429
Transcytose	430
Les endosomes	431

Distribution et organisation des endosomes	432
Endosomes précoces (ou primaires)	432
Endosomes tardifs	439
Endosomes, carrefour de l'endocytose	443
16. RIBOSOMES ET RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE	446
Les ribosomes	446
Définition	446
Forme et structure	447
Constitution et organisation moléculaire	448
Divers sites ribosomiaux	449
Reconstruction spontanée des ribosomes	451
La protéogenèse	451
Définition	451
Schéma général de la synthèse protéique	451
Mécanisme de la traduction	452
Polyribosomes ou polysomes	457
Le réticulum endoplasmique	459
Définition	459
Composition membranaire	459
Asymétrie de la membrane	460
Fonctions du REG	461
Fonction du réticulum endoplasmique lisse	473
Biogenèse du réticulum endoplasmique	478
Transport des molécules du RE à l'appareil de Golgi	479
17. L'APPAREIL DE GOLGI	484
Structure de l'appareil de Golgi	484
Définition	484
Microscopie optique de l'appareil de Golgi	485
Microscopie électronique de l'appareil de Golgi	486
Rôle des microtubules dans l'intégrité de l'appareil de Golgi	489
Localisation de l'appareil de Golgi	489
Stabilisation par les microtubules	489
Le réseau cis de l'appareil de Golgi	489
Le CGN est-il un compartiment intermédiaire ?	489
Structure du CGN	489
Échanges entre RE et CGN	490
Fonction de tri du CGN	490
Les saccules du dictyosome	491
Saccules cis	491
Saccules médians	491
Saccules trans	492
Composition moléculaire des membranes des saccules	492
Le réseau trans de l'appareil de Golgi	493
Structure	493
Constitution biochimique de la membrane du TGN	493
Fonctions du TGN	493
Fonctions de l'appareil de Golgi	494
Transport des protéines issues du RE à travers l'appareil de Golgi	494
Synthèse des glycoprotéines et des protéoglycanes	496
Sulfatation des glycoprotéines et des protéoglycanes	501
Maturation des protéines dans l'appareil de Golgi	501
Fonction de tri	502
Exportation des protéines	503

Stockage du calcium	504
Formation des vacuoles de macro-autophagie	505
Synthèse et glycosylation des lipides	505
Biogenèse de l'appareil de Golgi	506
Appareil de Golgi au cours de la mitose	506
Réassemblage de l'appareil de Golgi	507
L'exocytose	507
18. LES LYSOSOMES	511
Définition	511
Morphologie	512
Répartition	512
Composition biochimique	513
Membrane lysosomale	513
Matrice	515
Biogenèse des lysosomes	516
Mise en place du marqueur mannose 6-phosphate	516
Formation des vésicules à hydrolases	517
Les compartiments cibles des vésicules à hydrolases	517
Voie endosomale	517
Voie lysosomale	518
Voie sécrétoire	518
Modes de fonctionnement des lysosomes	518
Hétérophagie	519
Autophagie	522
Les corps résiduels	523
Définition	523
Figures myéliniques	524
Lipofuscines	524
Activité phosphatasique des corps résiduels	524
Excrétion ou persistance des corps résiduels	524
Fonctions des lysosomes	525
Rôle dans la digestion	525
Rôle dans la digestion des protéines cytosoliques	525
Rôle dans la défense de l'organisme	525
Renouvellement des organites	525
Destruction des zones cellulaires lésées par des toxiques	526
Rôle dans la régulation de la sécrétion (crinophagie)	526
Digestion de matériaux extracellulaires	526
Rôle dans la fécondation	527
Les maladies lysosomales	528
Lésions non génétiques de la membrane lysosomale	528
Lésions génétiques de la membrane lysosomale	529
Maladies de surcharge	529
19. LES PEROXYSOMES	534
Morphologie des peroxysomes	534
Définition	534
Localisation et nombre	535
Structure	535
Composition biochimique des peroxysomes	537
Composition biochimique de la membrane	537
Composition biochimique de la matrice peroxysomale	538
Renouvellement des protéines peroxysomales	539
Origine des protéines peroxysomales	539

Assemblage des membranes peroxysomales membranaires.....	539
Importation des protéines peroxysomales dans la matrice.....	539
Polymérisation des protéines dans la matrice.....	541
Biogenèse des peroxysomes.....	541
Multiplication des peroxysomes.....	541
Activation des gènes PEX.....	541
Variabilité des peroxysomes.....	543
Variation numérique.....	543
Variation du contenu enzymatique.....	543
Fonctions des peroxysomes.....	543
β -oxydation des acides gras.....	543
α -oxydation des acides gras.....	543
Début de la synthèse des plasmalogènes.....	544
Métabolisme des purines.....	544
Biosynthèse du cholestérol et des sels biliaires.....	544
Catabolisme des prostaglandines.....	545
Métabolisme des acides aminés.....	545
Métabolisme de la tri-iodothyronine.....	545
Détoxification de l'éthanol et du méthanol.....	545
Transformation des acides gras en glucose.....	546
Les maladies peroxysomales.....	546
20. LE CENTRE CELLULAIRE ET LES DÉRIVÉS CENTRIOLAIRES.....	550
Le centrosome ou MTOC.....	550
Définition.....	550
Le centriole.....	551
Matériel péricentriolaire.....	559
Fonction des centrosomes : nucléation des microtubules.....	561
Les cils vibratiles.....	562
Définition.....	562
Structure des cils vibratiles.....	562
Battement ciliaire.....	565
Groupement de cils en bordure ciliaire.....	569
RÉPONSES AUX EXERCICES.....	573
OUVRAGES CONSEILLÉS.....	595
INDEX.....	597

Remerciements

Comme je ne suis pas le seul responsable du contenu de cet ouvrage, je tiens particulièrement à remercier mon épouse, qui depuis la première édition, en 1973, m'a efficacement secondé. En qualité de première lectrice, Christiane Maillet m'a souvent fait corriger des phrases dont la construction rendait la lecture difficile : de plus, Christiane, compétente en publication assistée par ordinateur, a réalisé la mise en page de plusieurs de mes ouvrages (en fait, je devrais dire de nos ouvrages), ce qui nous permettait de travailler plus rapidement, en toute sécurité.

À la mémoire de mon père
Monsieur Maurice Maillet
qui m'a enseigné les véritables valeurs :
travail, conscience, persévérance.
C'est lui qui, le premier, m'a fait connaître
cette phrase de Guillaume d'Orange :
« Il n'est pas nécessaire d'espérer pour entreprendre
ni de réussir pour persévérer. »

À la mémoire de Monsieur Félix Langner
et de Madame Emma Langner
Je les remercie de l'aide qu'ils m'ont apportée
dans des moments difficiles.

Avant-propos

Le terme de *biologie* fut utilisé pour la première fois, en 1802, par un Allemand, le naturaliste Treviranus et un Français, le zoologiste Lamarck. Le champ sémantique du terme « biologie » était, alors, extrêmement large puisqu'il englobait toutes les sciences consacrées aux organismes vivants (anatomie, morphologie, physiologie, embryologie, psychologie, botanique, zoologie, anthropologie, etc.).

La conception actuelle de la biologie est due à Yves Delage qui définit la *biologie générale* comme « la recherche des conditions et des causes des grandes manifestations de la vie dans la cellule, dans l'individu et dans l'espèce ». La *biologie cellulaire* et la *biologie moléculaire*, dont les limites imprécises se recouvrent souvent, sont des disciplines appartenant à la biologie générale.

La *biologie cellulaire* est l'étude de la cellule, de sa structure, de sa composition biochimique et des interactions qui assurent son fonctionnement, en considérant structures et mécanismes sous leur aspect de généralité universelle, c'est-à-dire de leur similitude d'un type cellulaire à un autre.

Pour atteindre ce but, la biologie cellulaire s'appuie sur la *biochimie* qui inventorie les constituants moléculaires de la cellule et les métabolismes dépendants des enzymes, sur la *cytologie* qui, grâce à la microscopie électronique, a permis de connaître la morphologie des divers organites de la cellule, sur la *biologie moléculaire* qui traite essentiellement des rapports entre la structure d'une molécule et sa fonction et des propriétés des molécules dont l'assemblage réalise un être vivant.

La biologie cellulaire est née vers les années 1950-1955.

Peu avant, en 1943, l'étudiant perdait son temps à apprendre les erreurs des chercheurs techniquement démunis. Il apprenait que « dans le noyau au repos, les éléments porteurs des gènes (euchromatine) produisent des complexes protéiques », que la membrane cellulaire « ou peau plasmatique n'est pas une chose différente du cytoplasme », que « le rôle du centrosome est complètement ignoré », que « les mitochondries semblent intervenir dans le fonctionnement cellulaire, spécialement dans l'élaboration des enclaves », que « les rapports de l'appareil de Golgi avec les processus de sécrétion paraissent probables ». Les observations faites uniquement en microscopie optique sur des coupes ne permettaient pas de comprendre le fonctionnement de la cellule.

L'apparition du microscope électronique, des techniques de marquage des protéines, puis un peu plus tard du microscope confocal ouvraient une ère de recherche fructueuse... La rapidité des progrès fut stupéfiante : la connaissance des fonctions des organites cellulaires se traduisit très rapidement, dans le domaine qui nous intéresse ici, c'est-à-dire dans le domaine médical, par une meilleure connaissance des mécanismes pathologiques et une nette amélioration des qualités thérapeutiques des nouveaux médicaments.

L'étudiant, au cours de l'apprentissage difficile de la biologie cellulaire, peut se poser quelques questions.

Est-il légitime que l'enseignement ou l'ouvrage que j'achète se limite à un volumineux exposé des connaissances acquises sans aucune explication, même simple, sur la manière dont ces connaissances sont acquises ?

L'intégration de plusieurs disciplines à la biologie cellulaire ne rend-elle pas ma tâche plus difficile car bien souvent les notions de biochimie et de biologie moléculaire ne sont pas acquises lorsque le cours de biologie cellulaire commence ?

Les progrès fulgurants de la biologie cellulaire ne rendent pas la tâche facile à l'auteur qui choisit, parmi les milliers de publications paraissant chaque année, ce qui doit être enseigné, tout en conservant un nombre raisonnable de pages à l'ouvrage. Ce choix imposé par cette limitation rend impossible toute description complète de la démarche expérimentale qui a conduit le biologiste, par exemple, à la connaissance des fonctions d'une protéine récemment découverte.

Cet ouvrage a été écrit dans le but de transmettre à l'étudiant les connaissances de base de la biologie cellulaire qu'il doit nécessairement acquérir pour accéder aux années ultérieures dans le domaine scientifique ou médical qu'il a choisi.

Les *acronymes* et les *abréviations anglo-américains* ne sont pas francisés à l'exception de ceux qui ont quelques rapports avec les acides nucléiques. Vous trouverez leur signification pages 5 à 16.

Des *QCM*, qui représentent une excellente contribution du Pr Lemullois à cet ouvrage, sont annexés à chaque chapitre : ils sont différents de ceux publiés dans l'ouvrage intitulé *300 QCM de biologie cellulaire* paru chez Masson. La réussite au concours nécessite non seulement une très bonne connaissance du cours mais aussi un *entraînement quasi quotidien* aux QCM.

En cas de difficultés, l'auteur est joignable par e-mail (mai813@aol.com).

Marc MAILLET
Esvres, Thoissey

Abréviations

5-HT	5-HydroxyTryptamine
5-HTR	5-HydroxyTryptamine Receptor ; récepteur de la 5-hydroxytryptamine
A	Adénine (code à une lettre des acides aminés)
AA	Acide aminé
AAA	ATPases Associated with various cellular Activities ; ATPases associées à des activités cellulaires variées
ABC	ATP-Binding Cassette ; boîte de liaison de l'ATP
ABP	Actin Binding Protein ; protéine de liaison de l'actine
ADF	Actin Destabilizing Factor ; facteur de déstabilisation de l'actine
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNmt	ADN mitochondrial
ADNr	ADN ribosomal
ADP	Adénosine diphosphate
AFM	Atomic Force Microscope ; microscope de force atomique
AG	Acide gras
AIF	Apoptosis Inducing Factor ; facteur induisant l'apoptose
AKAP	A kinase-Anchoring Protein ; protéine d'ancrage de la kinase A
ALD	AdrenoLeucoDystrophy ; adrénoleucodystrophie
ALS	Amyotrophie Lateral Sclerosis ; sclérose latérale amyotrophique
AMN	Adrénomyéloneuropathie
AMP	Adénosine 3'-5' monophosphate
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
AP	Acide phosphatidique
AP	Adapting Protein ; protéine adaptatrice
AP	site apurique-apyrimidique
APAAP	Alcalin Phosphatase Anti-Alcalin Phosphatase
APAF	Apoptotic Protein-Associated Factor ; facteur associé aux protéines apoptotiques
APC	Anaphase Promoting Complex ; complexe promoteur de l'anaphase
AQP	Aquaporine
ARD	Adult Refsum Disease ; maladie de Refsum chez l'adulte
ARF	ADP Ribosylation Factor ; facteur de ribosylation de l'adénosine diphosphate
ARN	Acide ribonucléique
ARNg	ARN guide
ARNm	ARN messenger
ARNmt	ARN messenger mitochondrial
ARNr	ARN ribosomal
ARNt	ARN de transfert
Arp	Actin-related protein ; protéine apparentée à l'actine

ARS	<i>Autonomous Replication Sequence</i> ; séquence autonome de réplication
ASF	<i>Alternative Splicing Factor</i> ; facteur alternatif d'épissage
asl	<i>asterless</i> ; sans aster
Atg6	<i>Autophagy related gene</i> ; gène lié à l'autophagie
ATM	Ataxie télangectasie mutée
ATP	Adénosine triphosphate
ATPase	Adénosine triphosphatase
ATR	<i>Ataxia Telangiectasia Related</i>
B6P	<i>Band 6 Polypeptide</i> ; polypeptide bande 6
Bcl	<i>B-cell lymphoma</i> ; lymphome à cellule B
BFA	Bréfeldine A
BFP	<i>Bundle Forming Pili</i> ; pili formant un faisceau
BHK	<i>Baby Hamster Kidney</i> ; rein de hamster nouveau-né
BiP	<i>Binding Protein</i> ; protéine de liaison
BP	<i>Bullous Pemphigoid</i> ; pemphigoïde bulleuse
BPAG	<i>Bullous Pemphigoid Antigen</i> ; antigène de la pemphigoïde bulleuse
BPS	<i>Binding Protein Signal</i> ; signal de liaison des protéines
BUB	<i>Budding Uninhibited by Benzimidazole</i> ; bourgeonnement non inhibé par le benzimidazole
C	Cytosine (code à une lettre des acides aminés)
CAD	<i>Caspase-Activated DNase</i> ; DNase activée par la caspase
CAK	<i>Cyclin-dependant Activating Kinase</i> ; kinase cycline-dépendante
CAM	<i>Cell Adhesion Molecule</i> ; molécule d'adhésion cellulaire
CB	<i>Coiled Body</i> ; corps spiralé
CBC	<i>Cap Binding protein Complex</i> ; complexe protéique se liant à la coiffe
CBF	<i>Centromer Binding Factor</i> ; facteur de liaison aux centromères
CBP	<i>Cap Binding Protein</i> ; protéine de liaison de la coiffe
cdc	<i>Cell division cycle</i> ; cycle de division cellulaire
Cdc6p	<i>Cell division cycle 6 protein</i> ; protéine 6 du cycle de division cellulaire
CDE	<i>Centromere DNA Element</i> ; élément d'ADN du centromère
Cdk	<i>Cyclin dependent kinase</i> ; kinase dépendant de la cycline
CDP	Cytidine DiPhosphate
CEN	Centromère
CENP	<i>Centromer Protein</i> ; protéine centromérique
CGN	<i>Cis Golgi Network</i> ; réseau golgien cis
CHIP	<i>Cannel-forming Integral Protein</i> ; protéine intrinsèque formant canal
Chk	<i>Check-point protein kinase</i> ; protéine kinase du point de contrôle
CHO	<i>Chinese Hamster Ovary</i> ; ovaire de hamster chinois
chromo	<i>Chromatin modification organizer</i>
CI-MPR	<i>Calcium-Indépendant-Mannose Phosphate Receptor</i> ; récepteur du mannose phosphate calcium-indépendant
CKI	<i>Cyclin-dependant protein Kinases Inhibitor</i> ; inhibiteur des protéines kinases dépendantes des cyclines
CLIP170	<i>Cytoplasmic Linker Protein 170</i> ; protéine cytoplasmique 170 de liaison

CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CMP	Cytosine monophosphate
CMT	maladie de Charcot-Marie-Tooth
CNG	<i>Cyclic Nucleotides Gated</i> ; dépendant des nucléosides cycliques
cnm	Centrosomine
COP	<i>Coat Protein</i> ; protéine de revêtement
COX	Cyclo-Oxygénase
CRE	<i>Cyclic AMP Responsive Element</i> ; élément sensible à l'AMP cyclique
CREB	<i>Cyclic AMP Responsive Element Binding protein</i> ; protéine de liaison de l'élément sensible à l'AMP cyclique
CRM1	<i>Chromosome Maintenance Region 1</i> ; région de maintenance du chromosome
ctHsp	<i>cytosolic Heat shock protein</i> ; protéine cytosolique de choc thermique
CTL	Lymphocyte T cytotoxique
CTP	Cytidine triphosphate
CURL	<i>Compartment of Uncoupling of Receptor and Ligand</i> ; zone de séparation du récepteur et de son ligand
Cx	Connexine
DAG	Diacylglycérol
DAG	<i>Dystrophin Associated Glycoprotein complex</i> ; complexe glycoprotéique associé à la dystrophine
DBRP	<i>Degradation Box Recognition Proteins</i> ; protéines de reconnaissance de la boîte de dégradation
DED	<i>Death Effector Domain</i> ; domaine effecteur de la mort
DFF	<i>DNA Fragmentation Factor</i> ; facteur de fragmentation de l'ADN
DHAP	Dihydroxyacétone phosphate
DHAP-AT	Dihydroxyacétone phosphate acyltransférase
DIG	<i>Detergent Insoluble Glycolipid enriched domain</i> ; domaine enrichi en glycolipide insoluble dans les détergents
DISC	<i>Death-Inducing Signalling Complex</i> ; complexe de signalisation induisant la mort
Dlg	Discs-large protein ; protéine à larges disques
DPI	<i>Disulfide Protein Isomerase</i> ; protéine disulfure isomérase
DR3	<i>Death Receptor-3</i> ; récepteur de la mort
Dsg	Desmoglérine
E	Arginine (code à une lettre des acides aminés)
E2F	<i>Early 2 Factor</i> ; facteur précoce 2
E2F	<i>Elongation 2 Factor</i> ; facteur d'élongation 2
ECM	<i>Extracellular Matrix</i> ; matrice extracellulaire
ECV	<i>Endosomal Carrier Vesicle</i> ; vésicule de transport endosomal
EEA 1	<i>Early Endosome Antigen 1</i> ; antigène 1 des endosomes précoces
eEF	<i>Eucaryotic Elongation Factor</i> ; facteur d'élongation
EF	<i>Elongation Factor</i> ; facteur d'élongation
EGF	<i>Epithelial Growth Factor</i> ; facteur de croissance épithélial
EGF-R	<i>Epithelial Growth Factor Receptor</i> ; récepteur du facteur de croissance épithéliale
EH	<i>Eps Homology</i> ; homologue d'Eps

eIF	<i>eucaryotic Initiation Factor</i> ; facteur d'initiation chez les eucaryotes
EPEC	<i>Enteropathogenic Escherichia Coli</i> ; <i>Escherichia Coli</i> entéro-pathogène
Eps	<i>Endocytosis proteins</i> ; protéines de l'endocytose
ERC	Endosome de recyclage
ERD	<i>Endoplasmic Reticulum receptor Defective</i>
ERGIC	<i>Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment</i> ; compartiment intermédiaire réticulum endoplasmique - appareil de Golgi
Erk	<i>Extra cellular signal-regulated kinase</i> ; kinase régulée par un signal extracellulaire
Fab	<i>Fragment antigen binding</i> ; fragment de liaison aux antigènes
FACS	<i>Fluorescence-Activated Cell Sorter</i> ; trieur de cellules par fluorescence (cytométrie en flux)
FAD	Flavine adénosine dinucléotide
FADD	<i>Fas-Associated Death Domain protein</i> ; protéine associée au <i>death domain</i> du Fas
FADH	Flavine adénine dinucléotide réduit
FAK	<i>Focal Adhesion Kinase</i> ; kinase d'adhérence focale
FasL	<i>Fas Ligand</i>
Fc	Fragment complément ou fragment cristallisable
FcR	<i>Fragment complement Receptor</i> ; récepteur du fragment complément
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i> ; facteur de croissance des fibroblastes
FH	<i>Familial Hypercholestérolémia</i> ; hypercholestérolémie familiale
FK	tacrolimus (un immunosuppresseur)
FKBP	<i>FK Binding Protein</i> ; protéine se liant à FK
FMLP	Formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine
FRAP	<i>Fluorescence Recovery After Photobleaching</i> ; restauration de la fluorescence après photoblanchiment
G	Guanine
GAG	Glycosaminoglycane
GAP	<i>GTPase Activating Protein</i> ; protéine d'activation de la GTPase
GAR	Glycine/arginine
GC	Guanylate cyclase
GDF	<i>GDP Dissolution Factor</i> ; facteur de dissolution de GDP
GDI	<i>Guanine nucleotide Dissociation Inhibitor</i> ; inhibiteur de la dissociation des nucléotides guanyliques
GDP	Guanosine diphosphate
GEF	<i>Guanine Exchange Factor</i> ; facteur d'échange des nucléotides guanyliques
GEM	<i>GEMini of coiled body</i> ; gémeaux des corps spiralés
GFAP	<i>Glial Fibrillary Acidic Protein</i> ; protéine acide des cellules gliales
GFP	<i>Green Fluorescent Protein</i> ; protéine verte fluorescente
GlcNAc	N-acétylglucosamine
GLUT	<i>Glucose Transporter</i> ; transporteur de glucose
GM1	Ganglioside monosialylé ou monosialoganglioside 1
GMP	Guanosine monophosphate

GMPc	Guanosine monophosphate cyclique
gp	glycoprotéine
GPCR	<i>G Protein-Coupled Receptor</i> ; récepteur couplé à la protéine G
GPI	Glycophosphatidylinositol
GRASP65	<i>Golgi Rassemblement Stacking Protein 65</i> ; protéine 65 de l'empilement de l'appareil de Golgi
Grb	<i>Growth factor receptor-band protein</i> ; protéine liée à un récepteur de facteur de croissance
GSK	<i>Glycogen Synthase Kinase</i> ; glycogène synthétase kinase
GTP	Guanosine triphosphate
GTPase	Guanosine triphosphatase
H ⁺ ATPase	Adénosine triphosphatase
HD	Hémidesmosome
HeLa	Helen Lane
HGF	<i>Hepatocyte Growth Factor</i> ; facteur de croissance des hépatocytes
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> ; virus de l'immunodéficience humaine
HLA	<i>Human Leucocyte Antigen</i> ; complexe majeur d'histocompatibilité
HLH	<i>Helix-Loop-Helix</i> ; hélice-boucle-hélice
HM	Histone mitochondriale
HMG	<i>High-Mobility Group</i> ; groupe de haute mobilité
HMM	<i>Heavy Meromyosin</i> ; méromyosine lourde
HMW	<i>High Molecular Weight</i> ; protéines de haut poids moléculaire
hnRNA	<i>heterogeneous nuclear RNA</i> ; acide ribonucléique nucléaire hétérogène
hnRNP	<i>heterogeneous nuclear Ribonucleoprotein</i> ; ribonucléoprotéine nucléaire hétérogène
HP1	Protéine 1 de l'hétérochromatine
hRip	<i>Human Rev interacting protein</i> ; protéine humaine interagissant avec Rev
HRP	<i>Horseradish Peroxydase</i> ; peroxydase du raifort
Hsp	<i>Heat shock protein</i> ; protéine de choc thermique
HTLV	<i>Human T cell Leukemia Virus</i> ; virus de la leucémie humaine à cellule T
HVDAC	<i>Human Voltage-Dependent Anion Channel</i> ; canal anionique voltage-dépendant humain
I	Isoleucine (code à une lettre des acides aminés)
IAP	<i>Inhibitor of Apoptosis Protein</i> ; inhibiteur des protéines de l'apoptose
IBB	<i>Importine B Binding domain</i> ; domaine de liaison de l'importine β
ICAD	<i>Inhibitor Caspase Activated Deoxyribonuclease</i> ; inhibiteur de la désoxyribonucléase activée par la caspase
ICAM	<i>Intercellular Cell Adhesion Molecule</i> ; molécule d'adhésion intercellulaire
IF	<i>Inhibition Factor</i> ; facteur d'inhibition
IF	<i>Initiation Factor</i> ; facteur d'initiation
IF	<i>Intermediate Filament</i> ; filament intermédiaire

IFAP	<i>Intermediate Filament-Associated Protein</i> ; protéine associée au filament intermédiaire
IFN- γ	Interféron γ
Ig	Immunoglobuline
IGF	<i>Insuline-like Growth Factor</i> ; facteur de croissance apparenté à l'insuline
IL	Interleukine
IMP	<i>Integral Membrane Protein</i> ; protéine intrinsèque membranaire
INCENP	<i>Inner-Centromere Protein</i> ; protéine interne du centromère
Ins 1,4,5 P ₃ ou IP ₃	Inositol 1,4,5 triphosphate
IP ₃ R	<i>Inositol 1,4,5-triphosphate Receptor</i> ; récepteur de l'inositol triphosphate
IRS-1	<i>Insulin Receptor Substrate-1</i> ; substrat 1 du récepteur de l'insuline
Isp	<i>Import site protein</i> ; site d'importation protéique
I κ b	Inhibiteur κ B
JAK	<i>Just Another Kinase</i> ; juste une autre kinase (remplacé par Janus-kinase)
kb	kilobase (1 000 bases)
KDEL	séquence lysine – aspartate – glutamate – leucine
KIF	<i>Kinesine Factor</i> ; facteur de la kinésine
KIF1B	<i>Kinesine Factor 1B</i> ; facteur 1B de la kinésine
kMT	<i>kinetochorian Microtubule</i> ; microtubule kinétochorien
KRP	<i>Kinesin-Related Protein</i> ; protéine apparentée à la kinésine
Lamp	<i>Lysosome-associated membrane protein</i> ; protéine membranaire associée au lysosome
LAP1	<i>Lamina Associated Protein</i> ; protéine associée à la lamine 1
LAP2	<i>Lamina Associated Protein</i> ; protéine associée à la lamine 2
LBPA	<i>Lysobisphosphatidic Acid</i> ; acide lysobisphospharidique
LBR/p56	<i>Lamine B Receptor</i> ; récepteur de la lamine B
L-CAM	<i>Liver-Cell Adhesion Molecule</i> ; molécule d'adhésion des cellules hépatiques
LDL	<i>Low Density Lipid</i> ; lipide de faible densité
LGP	<i>Lysosomal Membrane Glycoprotein</i> ; glycoprotéine membranaire lysosomale
LPA	<i>Lysophosphatidic Acid</i> ; acide lysophosphatidique
LTR	<i>Long Terminal repeats</i> ; longue répétition terminale
Ly-hsc73	<i>Lysosome – heat shock cognate</i> ; protéine lysosomale apparentée aux protéines de choc thermique
M	Méthionine (code à une lettre des acides aminés)
M6P	Mannose-6-phosphate
M6P-R	<i>Mannose-6-Phosphate Receptor</i> ; récepteur du mannose-6-phosphate
Mad1	<i>Mitotic arrest-defective protein</i> ; protéine de l'arrêt défectueux de la mitose
MAG	<i>Myelin-Associated Glycoprotein</i> ; glycoprotéine associée à la myéline
MAGUK	<i>Membrane-Associated GUanylate Kinase</i> ; guanylate kinase associée à la membrane
MAM	<i>Mitochondrial-Associated Membrane</i> ; membrane associée à la mitochondrie

Man	Mannose
MAP	<i>Microtubule Associated-Protein</i> ; protéine associée au microtubule
MAP-kinase	<i>Mitogene Activated Protein kinase</i> ; protéine kinase mitogène activée
MAR	<i>Matrix-Associated Region</i> ; région associée à la matrice
MARCKS	<i>Myristoylated, Alanine-Rich C-Kinase Substrate</i> ; substrat myristoylé de la kinase C, riche en alanine
Mas	<i>Mitochondrial assembly</i> ; assemblage mitochondrial
MCAK	<i>Mitotic Centromere-Associated Kinesin</i> ; kinésine associée au centromère mitotique
Mcm 2-7	Minichromosome maintenance ; maintien des minichromosomes
M-CSF	<i>Macrophage Colony Stimulating Factor</i> ; facteur de croissance hématopoïétique
MDCK	<i>Madin-Darby Canine Kidney</i> ; rein de chien Madin-Darby
ME	Microscopie électronique
MEB	Microscope électronique à balayage
Mek	MAP-kinase/erk-kinase
MELAS	<i>Mitochondrial Encephalopathy-Lactic Acidosis-Stroke-like episodes</i> ; syndrome associant myopathie, encéphalopathie, acidose lactique et accidents vasculaires cérébraux
MET	Microscopie électronique à transmission
MF	Microfilament d'actine
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i> ; complexe majeur d'histocompatibilité
MIM	<i>Mitochondrial Inner Membrane</i> ; membrane interne mitochondriale
Mimivirus	apocode de <i>Mimicking-microbe-virus</i> ; virus qui imite un microbe
MIWC	<i>Mercurial-Insensitive Water Channel</i> ; canal aqueux insensible au mercure
MO	Microscopie optique
MOM	<i>Mitochondrial Outer Membrane</i> ; membrane externe mitochondriale
MPF	<i>Mitosis Promoting Factor</i> ; facteur promoteur de la mitose
MSF	<i>Mitochondrial import Stimulation Factor</i> ; facteur mitochondrial de stimulation de l'importation
MT	Microtubule
mtHsp	<i>mitochondrial Heat shock protein</i> ; protéine mitochondriale de choc thermique
MTOC	<i>Microtubules Organizing Center</i> ; centre organisateur des microtubules
Mut	<i>Mutator</i> ; mutation
MVB	<i>Multivesicular Body</i> ; corps multivésiculaire
MVC	<i>Multivesicular Carrier</i> ; transporteur multivésiculaire
NAD	Nicotinamide adénosine dinucléotide
NADPH	Nicotinamide adénosine dinucléotide phosphate réduit
NALD	<i>Neonatal Adrenoleucodystrophy</i> ; adrénoleucodystrophie néonatale
NANA	<i>N-acetylneuraminidic acid</i> ; acide N-acétylneuraminidique

NAP	<i>Nucleosome Assembly Protein</i> ; protéine d'assemblage du nucléosome
NB	<i>Nuclear Body</i> ; corps nucléaire
NBP	<i>Nuclear Binding Protein</i> ; protéine nucléaire de liaison
N-CAM	<i>Neural-Cell Adhesion Molecule</i> ; molécule d'adhésion des cellules nerveuses
NEM	<i>N-Ethylmaleimide</i> ; N-éthylmaléimide
NES	<i>Nuclear Export Signal</i> ; signal d'exportation nucléaire
NF	Neurofilament
NF-H	<i>Neurofilament Heavy</i> ; neurofilament lourd
NF-L	<i>Neurofilament Light</i> ; neurofilament léger
NF-M	<i>Neurofilament Medium</i> ; neurofilament moyen
NF- κ B	<i>Nuclear Factor-κB</i> ; facteur nucléaire- κ B
Ng-CAM	<i>Neuroglial-Cell Adhesion Molecule</i> ; molécule liant les neurones à la glie
NGF	<i>Nerve Growth Factor</i> ; facteur de croissance nerveux
NGF-R	<i>Nerve Growth Factor-Receptor</i> ; récepteur du facteur de croissance nerveux
NHE	<i>Na⁺H⁺ Exchanger</i> ; échangeur Na ⁺ /H ⁺
NIH	<i>National Institute of Health</i> ; Institut national de la santé
NLS	<i>Nuclear Localization Signal</i> ; signal de localisation nucléaire
nm	Nanomètre
NO	Oxyde nitrique
Nop	<i>Nucleolar protein</i> ; protéine nucléolaire
NOR	<i>Nuclear Organizing Center</i> ; centre d'organisation nucléaire
NPC	Niemann Pick type C
NPC	<i>Nuclear Pore Complex</i> ; complexe du pore nucléaire
NRS	<i>Nuclear Retention Signal</i> ; signal de rétention nucléaire
NSF	<i>N-ethylmaleimide-Sensitive Factor</i> ; facteur sensible à N-éthylmaléimide
NTF	<i>Nuclear Transport Factor</i>
NUMA	<i>Nuclear Mitotic Apparatus</i> ; appareil nucléaire mitotique
Nup	Nucléopore
ORC	<i>Origine Recognition Complex</i> ; complexe de la reconnaissance de l'origine
PA	<i>Phosphatidic Acid</i> ; acide phosphatidique
PACAP	<i>Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide</i> ; polypeptide activant l'adénylate cyclase pituitaire
PAF	<i>Peroxisomal Assembly Factor</i> ; facteur d'assemblage peroxysomal
PAF	<i>Platelet-Activating Factor</i> ; facteur activateur des plaquettes
PAHX	Phytanoyl-CoA hydroxylase
PAP	Peroxydase anti-peroxydase
PAPS	Phospho-amino-phospho-sulfate
PAS	<i>Peroxisomal Assembly</i> ; assemblage peroxysomal
PAY	<i>Peroxisome Assembly in Yarrowia lipolytica</i> ; assemblage peroxysomal de <i>Yarrowia lipolytica</i>
pb	Paire de bases
PC	Phosphatidylcholine
PCM	<i>Pericentriolar Material</i> ; matériel péricentriolaire
PCNA	<i>Proliferating Cell Nuclear Antigen</i> ; antigène nucléaire de la prolifération cellulaire

PDGF	<i>Platelet-Derived Growth Factor</i> ; facteur de croissance d'origine plaquettaire
PDGF-R	<i>Platelet-Derived Growth Factor-Receptor</i> ; récepteur du facteur de croissance dérivé des plaquettes
PE	Phosphatidyl éthanolamine
PEX	Peroxine
PG	Phosphatidylglycérol
PGI	<i>Pre-Golgi Intermediate</i> ; intermédiaire pré-golgien
PH	<i>Pleckstrine Homolog</i> ; homologue de la pleckstrine
PHA	Phytohémagglutinine
PI	Phosphatidylinositol
Pi	Phosphate inorganique
PI3K	Phosphatidylinositol 3-phosphate kinase
plg-R	<i>polymeric Immunoglobulin Receptor</i> ; récepteur polymérique de l'immunoglobuline
PIP1	Phosphatidylinositol phosphate 1
PIP2	Phosphatidylinositol biphosphate
Pixel	apocope de <i>Picture element</i> ; élément d'une image
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PL	Phospholipide
PLA2	Phospholipase A2
PLC	Phospholipase C
plg-R	<i>polymeric Immunoglobulin Receptor</i> ; récepteur polymérique de l'immunoglobuline
PM	Poids moléculaire
PMP	<i>Peroxisomal Membrane Protein</i> ; protéine de la membrane peroxysomale
PNB	<i>Pre-Nucleolar Body</i> ; corps prénucléolaire
pom	<i>pore membrane protein</i> ; protéine membranaire du pore
PP	<i>Peroxisomal Proliferator</i> ; proliférateur des peroxysomes (substance provoquant la multiplication des peroxysomes)
PPAR	<i>Peroxisomal Proliferators-Activated Receptor</i> ; récepteur activé par les proliférateurs des peroxysomes
PPLO	<i>Pleuroneumoniae-Like Organism</i> ; organisme ressemblant aux <i>Pleuropneumoniae</i>
PPRE	<i>Peroxisome Proliferators-Response Element</i> ; élément de réponse aux proliférateurs des peroxysomes
pRb	<i>Retinoblastoma protein</i> ; protéine du rétinoblastome
PS	Phosphatidylsérine
PSGL-1	<i>P Selectin Glycosylated Ligand</i> ; ligand glycosylé de la sélectine P
PTP	<i>Permeability Transition Pore</i> ; pore de transition de la perméabilité
PTS	<i>Peroxisomal Targeting Signal</i> ; signal d'adressage peroxysomal
R	Arginine (code à une lettre des acides aminés)
Rab	<i>Ras-bovine brain</i> ; Ras extrait du cerveau de bovin
rabex	<i>Rab exchange</i> ; facteur d'échange de rab5 GDP/GTP
Raf	<i>Ras activating factor</i> ; facteur d'activation de Ras
Ran	<i>Ras-related nuclear protein</i> ; protéine nucléaire apparentée à Ras

Ras	<i>Rat sarcoma</i> ; sarcome du rat
RBD	<i>RNA-Binding Domain</i> ; domaine de liaison avec l'ARN
RCDP	<i>Rhizomelic ChondroDysplasia Punctata</i> ; chondrodysplasie rhyzomélisque ponctuée
RCP	<i>Replication Check point</i>
RE	Réticulum endoplasmique
RecA	Recombinaison A
REG	Réticulum endoplasmique granulaire
REL	Réticulum endoplasmique lisse
Rev	<i>Regulation of expression of viral protein</i> ; régulation de l'expression des protéines virales
RF	<i>Releasing Factor</i> ; facteur de libération
RFA	<i>Replication Factor A</i> ; facteur A de réplication
RGD	séquence arginine – glycine – aspartate
RIP	<i>Receptor-Interacting Protein</i> ; protéine interagissant avec le récepteur
RME	<i>Receptor Mediated Endocytosis</i> ; endocytose médiée par un récepteur
RNP	Rapport nucléoplasmatique
RNP	Ribonucléoprotéine
RRE	<i>Rev Response Element</i> ; élément de réponse à Rev
RRM	<i>RNA Recognition Motif</i> ; motif de reconnaissance de l'ARN
RyR	<i>Ryanodine Receptor</i> ; récepteur de la ryanodine
S1P	Site 1 Protease ; protéase du site 1
S	<i>Short</i> ; court
SAM	<i>Substrate Adhesion Molecule</i> ; molécule d'adhésion au substrat
SAR	<i>Scaffold-Associated Region</i> ; région associée à l'échafaudage
SBMA	<i>SpinoBulbar Muscular Atrophy</i> ; atrophie musculaire spino-bulbaire
SCA	<i>SpinoCerebellar Ataxia</i> ; ataxie spino-cérébelleuse
SCAP	<i>SREBP Cleavage-Activating Protein</i> ; protéine d'activation du clivage de SREBP
Sec	<i>Secretion</i> ; sécrétion
SERCA	<i>Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Calcium pump</i> ; pompe calcique du réticulum sarcoplasmique/endoplasmique
SF	<i>Splicing Factor</i> ; facteur d'épissage
SH	<i>Src-Homology domain</i> ; domaine homologue à Src
SKL	Sérine – lysine – leucine (code international à une lettre)
Skp1	<i>S-phase kinase associated protein</i> ; protéine associée aux kinases de la phase S
SMC	<i>Structural Maintenance of Chromosome</i> ; maintien de la structure des chromosomes
SNAP	<i>Soluble NSF Attachment Protein</i> ; protéine d'attachement du NSF soluble
SNARE	<i>SNAP Receptor</i> ; récepteur de SNAP
SNC	Système nerveux central
snoRNA	<i>small nucleolar RNA</i> ; petit acide ribonucléique nucléolaire
snoRNP	<i>small nucleolar RNP</i> ; petite ribonucléoprotéine nucléolaire
snRNA	<i>small nuclear RNA</i> ; petit acide ribonucléique nucléaire
snRNP	<i>small nuclear RNP</i> ; petite ribonucléoprotéine nucléaire

Snurp	<i>Small nuclear ribonucleoprotein</i> ; petite ribonucléoprotéine nucléaire
snurportine	mot créé à partir de snurp ; <i>small ribonucleoprotein</i>
SOD	Superoxyde dismutase cuivre-zinc
SPF	<i>phase S Promoting Factor</i> ; facteur promoteur de la phase S
SPT	<i>Single Particle Tracking</i> ; suivi d'une seule particule
SR	<i>Serine/arginine-Rich</i> ; riche en sérine et en arginine
Src	<i>Rous Sarcoma</i> ; sarcome de Rous
SREBP	<i>Steroid Response Element Binding Protein</i> ; protéine de liaison à l'élément de régulation des stéroïdes
SRP	<i>Signal Recognition Particle</i> ; particule de reconnaissance du signal
SSB	<i>Single Strand Binding protein</i> ; protéine se liant à un simple brin
SST	<i>Sequence-Specific Transactivation</i> ; transactivation spécifique de séquence
STAT	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription signal</i> ; transducteur et activateur de la transcription
SV40	<i>Simian Virus 40</i>
T	Thymine
T3	Tri-iodothyronine
TAP	<i>Transcytosis Associated Protein</i> ; protéine associée à la transcytose
TAP	<i>Transporter Associated Protein</i> ; protéine associée à un transporteur
TAP	<i>Transporter in Antigen Processing</i> ; transporteur impliqué dans la présentation antigénique
TATA	Thymine/Adénine/Thymine/Adénine
TBP	<i>TATA-Binding Protein</i> ; protéine de liaison à la boîte TATA
TCP-1	<i>Transfer Complex Polynucleotide-1</i> ; polynucléotide complexe de transfert 1
TF	<i>Transcription Factor</i> ; facteur de transcription
TfR	<i>Transferrin Receptor</i> ; récepteur de la transferrine
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i> ; facteur de transformation cellulaire
TGN	<i>Trans Golgi Network</i> ; réseau trans golgien
Tim	<i>Translocase inner membrane</i> ; translocase de la membrane interne
TKR	<i>Tyrosine Kinase Receptor</i> ; récepteur à activité tyrosine kinase
Tm	Température de fusion
TM	Tropomyosine
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i> ; facteur de nécrose tumorale
TNF-R	<i>Tumor Necrosis Factor-Receptor</i> ; récepteur du facteur de nécrose tumorale
Tom	<i>Translocase outer membrane</i> ; translocase de la membrane externe
TRADD	<i>TNF Receptor-Associated Death Domain protein</i> ; protéine associée au death domain du récepteur du TNF
TRAF	<i>TNF-R Associated Factor</i> ; facteur associé au récepteur de TNF
TRIAC	<i>Triiodothyroacetic acid</i> ; acide triiodothyroacétique
TriC	<i>TCP-1 ring Complex</i> ; complexe en anneau de TCP-1
Ts	<i>Temperature stable</i> ; température stable

TSH	<i>Thyreostimulin Hormon</i> ; hormone thyroïdienne
TSH	Thyreostimuline Hypophysaire
t-SNAP	<i>target Soluble NSF Attachment Protein</i> ; protéine cible d'attachement du NSF soluble
t-SNARE	<i>target SNAP Receptor</i> ; récepteur cible de SNAP
Tu	<i>Temperature unstable</i> ; température instable
U2AF	<i>U2 Auxiliary Factor</i> ; facteur auxiliaire de U2
UBF	<i>Upstream-Binding Factor</i> ; facteur de liaison en amont
UCP	<i>Uncoupling Protein</i> ; protéine de découplage
UDP	Uridine diphosphate
UDP-Gal	Galactose lié à l'UDP
UMP	Uridine monophosphate
UQH	Ubiquinone réduite
UTP	Uridine triphosphate
UTR	<i>Untranslated Region</i> ; région non traduite
UV	UltraViolet
VDAC	<i>Voltage-Dependent Anion Channel</i> ; canal anionique voltage-dépendant
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> ; facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VIP	<i>Vesicular Integral-membrane Protein</i> ; protéine intrinsèque de la membrane des vésicules
VLCFA	<i>Very Long Chain Fatty Acid</i> ; acide gras à très longue chaîne
Vmax	Vitesse maximum
v-SNAP	<i>vesicular Soluble NSF Attachment Protein</i> ; protéine vésiculaire d'attachement du NSF soluble
v-SNARE	<i>vesicular SNAP Receptor</i> ; récepteur vésiculaire de SNAP
VTC	Vesiculotubular Compartment ; compartiment tubulovésiculaire
WAS	<i>Wiskott-Aldrich Syndrome</i> ; syndrome de Wiskott-Aldrich
WASp	<i>WAS protein</i> ; protéine WAS
ZO	Zonula occludens
γ -TuRC	γ -Tubulin Ring Complex ; complexe annulaire de tubuline γ

Schéma général des cellules procaryotes et eucaryotes

1

- I. Les deux types de cellules
- II. Les dimensions des cellules
- III. Les cellules eucaryotes
- IV. Les cellules procaryotes
- V. Les virus

Les découvertes réalisées dans le domaine scientifique sont tributaires des techniques. Ainsi, la patiente et longue mise au point des fusées-sondes a permis d'acquérir une meilleure connaissance de notre satellite naturel. En 1994, la sonde Clémentine établit une vue de la totalité de la face cachée de la Lune. Il en est de même dans le domaine de la biologie cellulaire. En 1665, *Robert Hooke* (1635-1702), alors professeur de géométrie à Gresham College, perfectionne le microscope (inventé par Zaccharias Jansen ou par Galilée) et l'utilise pour étudier de fines coupes de liège, réalisées à main levée avec un canif. Il découvre que le liège est constitué par des cavités séparées par des cloisons d'épaisseur variable. Il est le premier à utiliser le mot « *cell* » (cellule) pour désigner ces alvéoles.

À la même époque, *van Leeuwenhoek* (1632-1723) construit lui-même ses microscopes simples (fig. 1.3) équipés d'une seule lentille. Ces lentilles ont une distance focale très courte : le grossissement obtenu est compris entre 50 et 300. En observant, avec ce microscope, une goutte d'eau provenant d'un étang, il découvre qu'elle contient des animalcules animés de mouvements incessants. Leeuwenhoek fut aussi le premier à observer les noyaux de cellules vivantes dans les hématies de saumon, sans évidemment comprendre l'intérêt et l'importance de cette structure. Ses travaux de microscopiste l'ont amené à douter de la théorie de la génération spontanée. Leeuwenhoek était convaincu que les petites créatures vivantes provenaient d'un œuf, de graines ou du frai.

La microscopie, née avec les travaux de Hooke (1635) et de van Leeuwenhoek, s'impose progressivement pour devenir une des principales techniques d'étude de la matière vivante et permettre, trois siècles plus tard, la *naissance de la biologie cellulaire* (1955).

Les progrès de l'optique, la découverte des lentilles achromatiques, permettent à Dutrochet (1824), Schleiden et Schwann (1838)

d'affirmer que la cellule est l'unité structurale de tous les organismes vivants. Cette « théorie cellulaire est une des généralisations les plus fructueuses de la pensée biologique. » (H. Firket).

Dutrochet, médecin né à Tours, est le premier à énoncer la théorie cellulaire englobant les végétaux et les animaux. En 1824, il écrit à propos du tissu hépatique, des testicules ou des glandes salivaires : « Ces tissus sécréteurs sont composés... de petits corps globulaires assemblés par cohésion ». De même, ses observations sur les plantes lui font écrire : « Les plantes sont entièrement composées de cellules... ces cellules sont simplement contiguës et adhérentes les unes aux autres... ». Cette dernière observation confirme les travaux de Treviranus. Il démontre en 1805 que les cellules végétales sont des unités autonomes, individualisées : une telle démonstration aboutit, une trentaine d'années plus tard, à la théorie cellulaire de Schleiden, appliquée uniquement aux végétaux. La faible visibilité des membranes animales est un obstacle à la généralisation de la théorie de Schleiden. Le mérite de Schwann est de transposer les travaux de Schleiden, de les appliquer à l'étude des tissus animaux, de montrer l'importance de la cellule, unité essentielle des êtres vivants, élément fondamental responsable de la genèse des autres constituants tissulaires. Cette généralisation fut la conséquence surprenante d'un dîner à Berlin, où, en 1837, Schleiden décrivit à Schwann l'unité de base du monde végétal.

La parution du livre de Schwann, *Recherches microscopiques sur la concordance dans la structure et dans la croissance des animaux et des plantes*, consacre, en 1839, la naissance de la théorie cellulaire et sa généralisation.

Mais la théorie de Schleiden et de Schwann est entachée d'une erreur que les contemporains et les successeurs corrigent ; c'est le propre des théories d'être remaniées sans cesse.

En effet, si Schwann décrit presque correctement la cellule dans ses grandes lignes comme une vésicule nucléée, limitée par une membrane, réglant les échanges nutritifs, il a en revanche admis, comme Schleiden, une origine intracellulaire de la cellule ; à ce mode de genèse, Schwann ajoute la formation extracellulaire : les cellules naîtraient au sein d'un liquide sans structure, le *cytoblastème*. Cette théorie du blastème formateur connaît un succès d'autant plus vif qu'elle confirme les idées philosophiques à la mode : les unités vivantes peuvent s'édifier aux dépens d'une matière dépourvue d'organisation.

Virchow, en 1858, publie un ouvrage où il expose ses idées et le résultat de ces recherches et tord définitivement le cou à ces notions fumeuses sur l'origine des cellules : il résume la théorie cellulaire par cet adage « *omnis cellula e cellula* » (toute cellule provient d'une cellule) et cette phrase « Là où apparaît une cellule, il doit y avoir eu une autre cellule auparavant. »

I. Les deux types de cellules

Sous le terme de « cellule », les biologistes regroupent deux types de cellules tout à fait différents les uns des autres :

- les *cellules procaryotes* qui furent les premières à apparaître sur la terre, il y a environ 3,5 milliards d'années (les plus anciens micro-organismes fossiles découverts sont des *cyanobactéries* : ils datent de 3,46 milliards d'années). Limitée par la membrane plasmique, la cellule procaryote ne possède pas de noyau et n'en a jamais possédé. Un seul chromosome, formé par une boucle d'acide désoxyribonucléique (ADN), représente le matériel génétique ; aucune enveloppe ne le sépare du cytoplasme ;
- les *cellules eucaryotes*, qui apparurent 2 milliards d'années plus tard. Elles contiennent chacune un noyau, organe limité par une enveloppe, renfermant le matériel génétique sous forme d'ADN. La cellule peut constituer à elle seule un être vivant souvent capable de se mouvoir : c'est le cas des *protozoaires* (amibes, paramécies).

Chez les *métazoaires*, les cellules eucaryotes sont associées, liées les unes aux autres, groupées en tissus épithéliaux, musculaires, de soutien (conjonctifs, cartilagineux, osseux), nerveux.

Les virus échappent à cette classification : lorsqu'ils sont isolés, ils ne manifestent aucune activité vitale. Leur matériel génétique (ADN ou ARN), est incorporé dans les cellules *eucaryotes* ou *procaryotes* où il est répliqué et dirige la *synthèse des protéines virales*.

II. Les dimensions des cellules

La taille et la forme des cellules sont d'une variabilité extrême.

Les plus petites, vivant libres, sont les *mycoplasmes*. Ces cellules procaryotes ont un diamètre de 100 nm. Ce sont des micro-organismes unicellulaires à action pathogène (pleuropneumonie), de grande variabilité de formes (ronde, ovoïde, filamenteuse, etc.).

Les *bactéries* ont des diamètres supérieurs à 500 nm et peuvent, lorsqu'elles sont filamenteuses, atteindre des longueurs de l'ordre de 20 μm (fig. 1.2).

Chez les *protozoaires*, les euglènes ont un diamètre de 120 μm , les amibes, en particulier *Amoeba proteus*, ont une longueur de 1 mm.

Chez les *mammifères*, le diamètre de la plupart des cellules est compris entre quelques microns et quelques dizaines de microns (hématies, 7 μm ; leucocytes humains, de 10 à 20 μm ; cellules épithéliales, 20 μm). Cependant, chez les oiseaux, certaines cellules sont particulièrement grandes (œuf d'autruche : 4 à 6 cm ; cellules nerveuses motrices chez la girafe dont l'axone peut mesurer plus de 3 m de longueur).

III. Les cellules eucaryotes

A. Membrane cellulaire

La membrane est une structure organisée et complexe qui sépare le milieu intracellulaire du milieu environnant. C'est une double couche lipidique associée à des protéines intramembranaires ou périphériques. Elle a un aspect *trilamellaire* en microscopie électronique. Elle est recouverte par le *cell coat* (manteau cellulaire).

Le rôle de la membrane plasmique est le maintien de l'intégrité de la cellule. Sa face externe entre en relation avec le *milieu extracellulaire* dont la composition est variable, sa face interne avec le milieu intracellulaire relativement constant. Ces deux faces ne possèdent donc ni la même structure, ni les mêmes fonctions. Cette *asymétrie* est caractérisée par le *revêtement glycosylé* (le *cell coat*) et par une *répartition différente des lipides*.

La membrane plasmique *trie* les molécules qui entrent dans le cytoplasme. Elle possède des *récepteurs membranaires* qui se lient spécifiquement à des signaux moléculaires, les ligands (hormones, par exemple) élaborés et libérés par d'autres cellules. Elle reconnaît des molécules du milieu extracellulaire, des débris cellulaires ou d'autres cellules. Elle possède les molécules nécessaires à l'*endocytose* (phagocytose et pinocytose).

La membrane plasmique peut posséder des *différenciations* qui magnifient ses fonctions : elle développe des *microvillosités* pour les cellules absorbantes, des *jonctions intercellulaires* lorsqu'une adhérence forte est nécessaire entre les cellules ou entre les cellules et la matrice extracellulaire.

La membrane plasmique associée au cytosquelette participe au *maintien de la forme* et aux *mouvements de la cellule*.

B. Compartimentation

Les cellules eucaryotes sont avant tout caractérisées par une compartimentation afin de gérer la diversité et la spécificité des fonctions cellulaires (fig. 1.1). Cette compartimentation se traduit par la présence de nombreux organites qui possèdent des activités spécialisées et différentes. Les compartiments sont isolés des constituants cytosoliques par des membranes constituées de lipides et de protéines : ils sont nécessaires aux confinements des ions, des molécules diverses. Pour exécuter les multiples fonctions de la cellule, les compartiments communiquent les uns avec les autres. Ils le font grâce à un système complexe de vésicules qui naissent par bourgeonnement de leur membrane et qui transportent les molécules vers les régions cellulaires où leur présence est nécessaire.

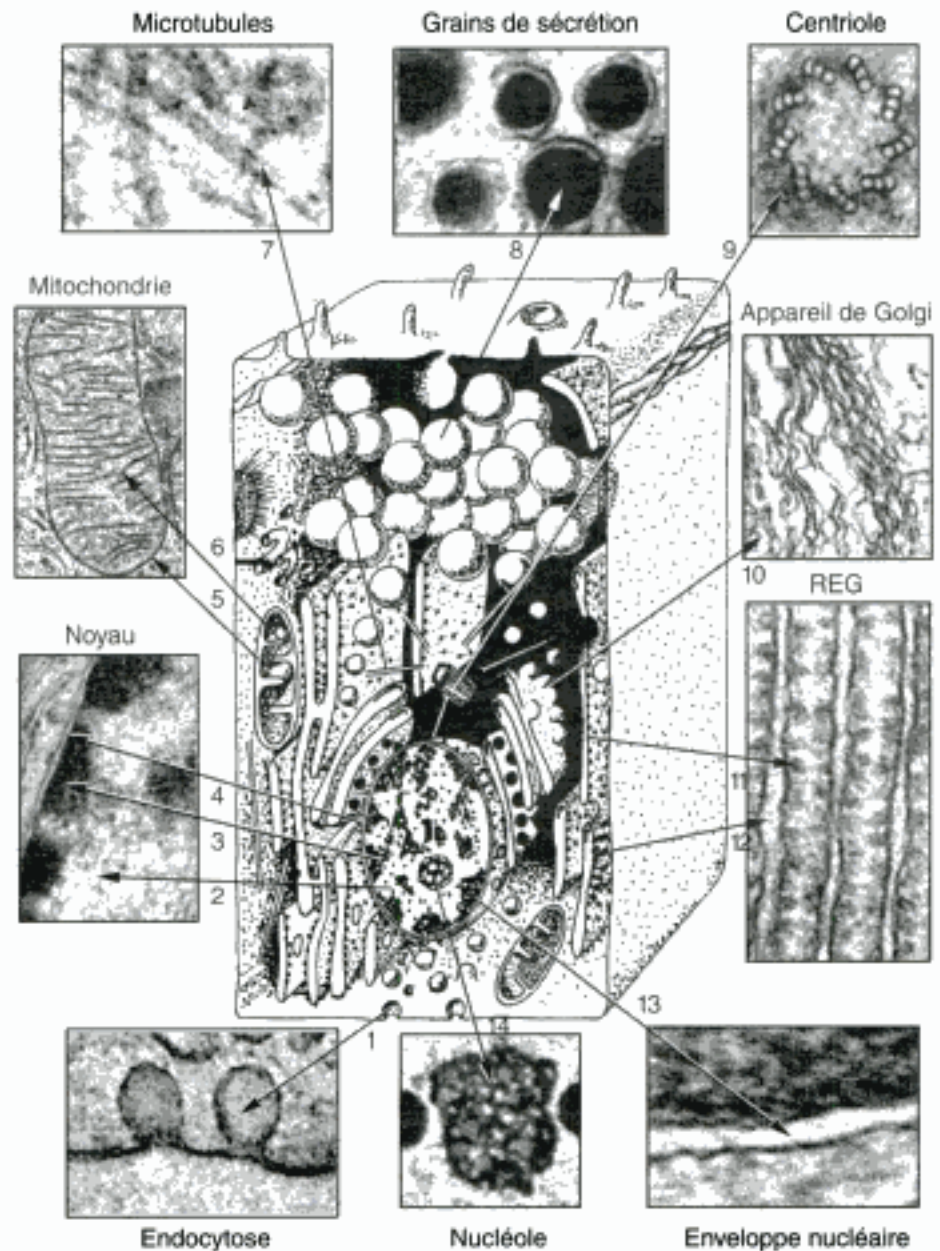
1. Noyau

Le noyau contient, sous la forme d'ADN, les informations nécessaires au maintien des caractéristiques et à la synthèse des protéines spécifiques de l'espèce. Le noyau contient, dans le *nucléoplasme*, un ou deux *nucléoles* et des *chromosomes* (ADN) plus ou moins dés spiralés (l'ADN des cellules eucaryotes est associé à des protéines, les histones).

L'enveloppe nucléaire, une dépendance du REG (réticulum endoplasmique granulaire), possède deux membranes (externe et interne) séparées par l'espace périnucléaire. La face cytoplasmique de la membrane externe est recouverte de ribosomes et la face nucléaire de la membrane interne est séparée de la chromatine par la lamina.

Des *pores*, ouvertures de l'enveloppe, offrent aux substances exogènes ou endogènes une possibilité de transit, aussi bien dans le sens noyau → cytoplasme que dans le sens cytoplasme → noyau.

Les *mottes de chromatine*, fortement colorables par les colorants basiques en microscopie optique, sont des zones occupées par les filaments d'ADN superspiralisés (ou *hétérochromatine*). Le terme d'*euchromatine*

**Fig. 1.1**

Représentation schématique tridimensionnelle d'une cellule à sécrétion exocrine.

1. Endocytose. 2. Nucléoplasme. 3. Chromatine marginale. 4. Enveloppe nucléaire. 5. Membrane mitochondriale externe. 6. Crête mitochondriale. 7. Microtubule. 8. Grains de sécrétion. 9. Centriole. 10. Appareil de Golgi. 11. Ribosome. 12. Membrane du REG. 13. Espace périnucléaire. 14. Nucléole.

désigne les régions plus ou moins décondensées de l'ADN, qui occupent les espaces compris entre les mottes de chromatine observées en microscopie photonique.

Le noyau est le siège de la *réplication de l'ADN*, de la correction des erreurs survenues au cours de la réplication et de la transcription en une molécule (l'ARN messager ou ARNm) porteuse de l'information, qui est décodée et traduite en protéines par les ribosomes dans le cytoplasme (traduction).

Le noyau contient le *nucléole*, qui est le centre de formation des *ribosomes*.

2. Mitochondries

Les mitochondries, organites ovalaires de 1 μm de longueur en moyenne, sont limitées par une *membrane externe* très perméable et une *membrane interne* peu perméable. La *membrane interne* contient des

molécules intervenant dans le transport transmembranaire en association avec des protéines transmembranaires de la membrane externe. La *membrane interne* dessine des crêtes qui plongent dans la matrice : elles contiennent la *chaîne respiratoire* et la *machinerie de synthèse de l'ATP* (adénosine triphosphate), molécule qui, par hydrolyse, délivre une grande partie de l'énergie nécessaire au fonctionnement de la cellule.

La matrice, siège du cycle de Krebs et de l'hélice de Lynen, est impliquée dans l'oxydation des glucides, des lipides et des acides aminés. Elle contient un ADN spécifique, l'ADNmt (ADN mitochondrial) et toute la machinerie moléculaire nécessaire à la synthèse d'une dizaine de protéines.

3. Système endomembranaire

Le système endomembranaire regroupe le *réticulum endoplasmique*, l'*appareil de Golgi*, les *endosomes* et les *lysosomes* qui communiquent entre eux par l'intermédiaire de vésicules formées par bourgeonnement de leur membrane. Un système complexe d'adressage permet à ces vésicules et aux molécules transportées (cargos) d'atteindre avec précision les compartiments pour lesquels elles ont été synthétisées.

a. Réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique (RE) est un ensemble de *cavités anastomosées* limitées par une membrane trilamellaire. Il occupe toute la cellule à l'exception de l'ectoplasme (partie la plus périphérique du cytoplasme). Le RE est granulaire (REG) lorsque des ribosomes sont accolés à la face externe de sa membrane, lisse (REL) lorsqu'il est dépourvu de ribosomes. Le réticulum endoplasmique granulaire, en décryptant l'ARNm, synthétise les protéines destinées à l'exportation et la plupart des protéines membranaires. Les ribosomes libres traduisent les ARNm en protéines destinées soit au cytosol, soit aux organites (peroxysomes, mitochondries, etc.). Le REL est également impliqué dans la synthèse de lipides.

b. Appareil de Golgi

L'appareil de Golgi est constitué par des empilements de saccules (les dictyosomes) et est délimité sur sa face cis par le réseau *cis-golgien*, et sur sa face trans par le réseau *trans-golgien*.

L'appareil de Golgi *modifie, trie, emballe et expédie* les produits élaborés par le RE. Les membranes de l'appareil de Golgi catalysent le transfert de précurseurs glucidiques ou lipidiques à des protéines pour *synthétiser des glycoprotéines* et des *lipoprotéines*. L'appareil de Golgi est non seulement responsable de la poursuite de la *N-glycosylation* qui a commencé dans le RE, mais dirige aussi la *O-glycosylation* des protéines à partir de précurseurs (des glucides nucléotidiques) provenant directement du cytosol.

L'appareil de Golgi est le principal *distributeur de nouvelles membranes* synthétisées par le RE. Il empaquette les protéines dans des vésicules séparées, spécifiques des produits à transporter.

c. Endosomes

Les endosomes regroupent les endosomes *précoces*, des *vésicules endosomales* de transport (ECV : *Endosomal Carrier Vesicle*) ou corps multivésiculaire (MVB : *Multivesicular Body*) et les endosomes *tardifs* qui sont l'objet d'une controverse. S'agit-il d'organites permanents ou temporaires ? Les

vésicules endosomales et les endosomes tardifs résulteraient-ils de transformations progressives ? De nombreuses études accréditent le fait que les endosomes précoces se formeraient par fusion des vésicules d'endocytose, se transformeraient en corps multivésiculaires puis en endosomes tardifs.

d. Lysosomes

Les lysosomes, nécessaires à la « digestion cellulaire », contiennent un très grand nombre d'hydrolases capables de lyser la majorité des molécules contenues dans la cellule.

Ils sont limités par une simple membrane trilamellaire qui résiste à un pH très bas (aux environs de 5). Les hydrolases clivent les molécules en composés simples qui sont réutilisés par la cellule. Le contenu enzymatique est variable, fonction du type d'activité de la cellule. La membrane des lysosomes peut être rompue : les enzymes libérées agissent sur leur substrat et la cellule est alors entièrement détruite.

4. Peroxysomes

Les peroxysomes sont sphériques ou ovalaires (diamètre de 0,3 à 1,5 μm), présents dans les cellules eucaryotes des mammifères, chez les protozoaires et dans les cellules végétales.

Ils contiennent des peroxydases qui détruisent le peroxyde d'hydrogène. En fonction des espèces, ces organites, limités par une membrane, renferment dans leur matrice un nucléoïde (formation paracristalline inconstante, absente chez l'Homme) au sein d'une substance homogène. Ils contiennent de l'uricase (absente chez l'Homme), une D-amino-oxydase, des L- α -hydroxy-oxydases, des enzymes intervenant dans le catabolisme de lipides, localisées soit dans la membrane, soit dans la matrice. Le contenu enzymatique varie en fonction du type cellulaire.

5. Centre cellulaire

Le centre cellulaire ou MTOC (*Microtubule Organizing Center* : centre organisateur des microtubules) est constitué par deux centrioles noyés dans une masse finement granulaire. Il existe dans toutes les cellules animales susceptibles de se diviser, où il occupe généralement une région voisine du centre de la cellule.

Le centre cellulaire contrôle l'organisation des microtubules (MT) : il intervient dans la polymérisation et la polarité des MT, leur extrémité négative plonge dans la masse granuleuse péricentriolaire, au cours de l'interphase, de la mitose, de la méiose. Les corpuscules basaux des cils vibratiles ou des flagelles sont des structures analogues des centrioles et sont donc considérés aussi comme des MTOC.

C. Cytosquelette

Le cytosquelette est une entité constituée par l'ensemble des MT, des microfilaments d'actine (MF) et des filaments intermédiaires (IF). Il intervient dans la morphologie cellulaire, le transport intracellulaire, la mobilité cellulaire, la mitose et la méiose.

Les MT, isolés ou groupés en faisceaux, dispersés ou localisés, parcourent le cytoplasme et convergent vers le centre cellulaire. Les MT sont des polymères instables du dimère de molécules de tubuline $\alpha\beta$.

Les microfilaments sont des polymères instables de l'actine globulaire (actine G).

Les IF sont des polymères stables : ils regroupent les filaments de cytokératine, de vimentine, de desmine, etc.

Le cytosquelette possède trois protéines mécano-chimiques, la *myosine*, la *dynéine* et la *kinésine* : elles convertissent l'énergie chimique en une énergie mécanique qui déplace les divers composants cellulaires, les organites et les vésicules qui transportent les molécules d'un compartiment cellulaire à un autre en suivant les MT qui leur servent de guide.

D. Cytosol

Le cytosol est une solution aqueuse (85 % d'eau) de pH 7, homogène, transparente, qui ne contient pas de structure visible en MO (microscopie optique) ou en ME (microscopie électronique). Appelé parfois *hyaloplasme* (plasma transparent), le cytosol est le surnageant obtenu après les différentes étapes de l'ultracentrifugation qui ont éliminé tout le matériel particulaire.

Le cytosol est le site de très nombreuses réactions catalysées par des enzymes solubles :

- dégradation des molécules protéiques, lipidiques et glucidiques (catabolisme) ;
- synthèse (anabolisme) de molécules organiques (protéines, glucides, lipides, nucléotides et quelques rares acides aminés) destinées aux membranes des organites.

Il fournit les cofacteurs et les enzymes nécessaires à la synthèse des protéines par le RE et par les ribosomes libres : il produit des nucléotides, des enzymes nécessaires au métabolisme des acides nucléiques, des précurseurs (des glucides, des lipides et des protéines) et des molécules extrinsèques de la face interne de la membrane plasmique, des protéines pour l'exportation, etc.

IV. Les cellules procaryotes

Les *cellules procaryotes* possèdent une structure beaucoup plus simple que les cellules eucaryotes : elles ne sont pas compartimentées.

Étymologiquement, procaryote (ou plutôt protocaryote) signifie « à noyau primitif ». L'ADN, qui a la forme d'une boucle fermée, n'est jamais séparé du cytoplasme par une enveloppe. Il possède entre 1 000 et 4 000 gènes. Les procaryotes regroupent de nombreuses formes de vie dont il ne sera retenu ici que les bactéries, la forme la plus ancienne de cellule vivante, les mycoplasmes et les cyanophycées.

A. Bactéries

1. Caractères généraux

Les *cellules procaryotes* contiennent des quantités d'ADN beaucoup plus faibles que les cellules eucaryotes. L'ADN *bactérien* code pour quelques milliers de protéines car la longueur de la molécule d'ADN varie entre 0,25 et 3 mm environ.

Nous prendrons comme type de bactéries *Escherichia coli* (colibacille) dont le diamètre est de $0,8\ \mu\text{m}$ et la longueur $2,5\ \mu\text{m}$. Cette bactérie est enveloppée par une paroi *résistante*, de $10\ \text{nm}$ d'épaisseur, un complexe de lipides, de polysaccharides et de polypeptides. En dedans de cette paroi, le colibacille est limité par une *membrane plasmique* constituée par une bicouche lipidique, *dépourvue de cholestérol*, contenant des protéines intramembranaires.

Le *chromosome bactérien* (fig. 1.2) est un filament disposé en boucle fermée de $2\ \text{nm}$ de diamètre et de $1,2\ \text{mm}$ de long : il occupe le centre de la bactérie. Cet emplacement porte le nom de *nucléotide*. Il n'est pas séparé du cytoplasme par une enveloppe.

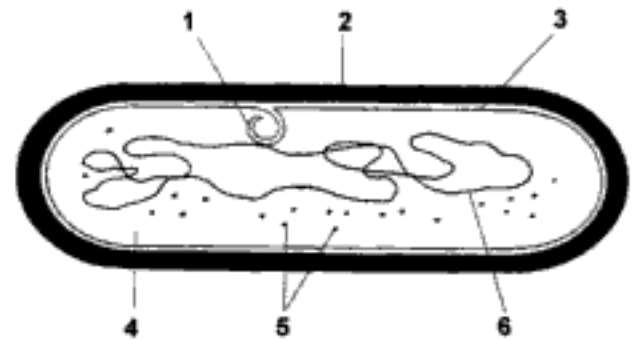


Fig. 1.2

Schéma général d'une cellule procaryote.

1. Mésosome. 2. Paroi. 3. Membrane plasmique. 4. Cytoplasme.

5. Ribosomes. 6. Chromosome circulaire.

Le cytoplasme est constitué par un milieu riche en protéines, le cytosol. Le cytosol contient environ $10\ 000$ *ribosomes*, particules de $25\ \text{nm}$ de diamètre, qui synthétisent les chaînes polypeptidiques des protéines.

2. Caractères distinctifs

Les bactéries peuvent posséder :

- une *capsule* de nature polysaccharidique, amorphe, qui entoure parfois plusieurs bactéries ; elle est souvent très mince, $0,2\ \mu\text{m}$; dans quelques espèces, elle est très épaisse et noie la cellule dans une sorte de mucus (zooglie) ;
- des *inclusions* (glycogène, lipides, soufre, etc.), qui sont des réserves de substances, des chromatophores qui sont des lamelles membranaires porteuses de pigments chlorophylliens ;
- des *mésosomes* (chez les bactéries aérobies) : il s'agit de complexes membranaires qui, pour certains auteurs, auraient la valeur fonctionnelle des mitochondries ; les mésosomes sont des invaginations plus ou moins complexes de la membrane plasmique, qui pénètrent parfois profondément dans le cytoplasme bactérien et auxquelles s'attache l'ADN circulaire ;
- des *pili*, expansions courtes, rigides, adhésives de la membrane plasmique ;
- un ou plusieurs *flagelles*, expansions motrices du cytoplasme.

B. Mycoplasmes

Les mycoplasmes sont des bactéries naines, d'un diamètre de $400\ \text{nm}$, non visibles en MO. Les mycoplasmes ou PPLO (*Pleuropneumoniae-Like Organism*) sont des bactéries pathogènes de l'appareil respiratoire

humain. Ces cellules contiennent environ 750 protéines différentes : ce sont les cellules les plus simples actuellement connues. Elles sont entourées par une paroi réduite externe, souple (située en dehors de la membrane plasmique), qui confère à ces cellules une forme aléatoire sans rigidité. Le cytoplasme entoure une molécule d'ADN circulaire : il contient des ribosomes et un appareil enzymatique important.

La membrane contient une quantité notable de cholestérol, absent chez les autres procaryotes bactériens.

C. Cyanophycées

Les *cyanophycées* sont des êtres vivants photosynthétiques unicellulaires vivant en colonie. Par exemple, *l'oscillaire* a la forme d'un filament de 4 µm de diamètre et de plusieurs centaines de microns de longueur, constitué par une rangée de cellules. Chaque filament est entouré par une substance mucilagineuse riche en acides *muramique* et *diaminopimélique*. Leur paroi est donc très voisine de celle des bactéries *Gram négatif*.

La coloration de Gram

► Des bactéries étalées sur une lame de verre sont colorées par une solution de violet de genciane et une solution de Lugol (de l'iode dissous dans une solution d'iodure de potassium) ; après coloration, de l'alcool est versé sur la préparation. Les bactéries qui ne sont pas décolorées par l'alcool sont dites *Gram positif* : celles qui sont rapidement décolorées sont bactéries à *Gram négatif*. Les bactéries sont ensuite traitées par de la fuchsine de Ziehl diluée. Les bactéries *Gram positif* demeurent colorées en violet, les bactéries *Gram négatif* apparaissent en rouge clair. Cette différence de coloration dépend de la *structure de la paroi*. Les cellules *Gram négatif* ont des parois très riches en lipides, facilement dissous par l'alcool qui traverse facilement la membrane cellulaire et extrait le colorant de telle sorte que la cellule est incolore. Cette différence structurale permet de comprendre la différence de sensibilité aux antibiotiques : certains antibiotiques ne sont actifs que sur les bactéries *Gram positif*, et d'autres uniquement sur les bactéries *Gram négatif*.

Elles possèdent un cytoplasme central occupé par un ADN circulaire non séparé du cytoplasme et de nombreux ribosomes. La zone périphérique de la cellule est occupée par l'appareil chlorophyllien, qui se compose de lamelles membranaires de 15 nm de diamètre, analogues aux thylakoïdes des chloroplastes mais non cloisonnées. Ces membranes sont associées à un pigment sensible à la lumière, la phycocyanine, qui rend ces cellules aptes à une vie autotrophe. Les lamelles membranaires et la phycocyanine interviennent dans la synthèse et l'accumulation de l'énergie.

V. Les virus

A. Définition

Un virus est une structure biologique particulière, un agent pathogène qui ne peut se reproduire en dehors d'une cellule eucaryote ou procaryote. Son génome est représenté par une molécule soit d'ADN, soit d'ARN (généralement circulaire, parfois linéaire).

B. Structure

Les virus sont des particules dont la taille est généralement inférieure aux limites de résolution de la microscopie optique. Ainsi, le virus de la fièvre aphteuse mesure de 15 à 20 nm : il n'est pas visible en microscopie optique. Cependant, il existe des exceptions : le virus de la *vaccine*, qui mesure environ 300 nm, est visible en MO ; le *mimivirus* (*mimicking-microbe-virus* ; virus qui imite un microbe) a un diamètre de 6 μm .

Un virus est constitué par un seul acide nucléique (ADN ou ARN), entouré par une capside (ou coque virale) constituée par l'assemblage de sous-unités, les capsomères, molécules protéiques existant chez tous les virus.

Chez certains virus dits enveloppés, l'ensemble capside – acide nucléique (core ou nucléocapside) est entouré d'une *enveloppe de nature phospholipidique* constituée à partir de la membrane plasmique de la cellule infestée lors du précédent cycle viral.

Les antigènes spécifiques du virus sont situés soit dans cette enveloppe, soit dans la capside (fig. 1.3).

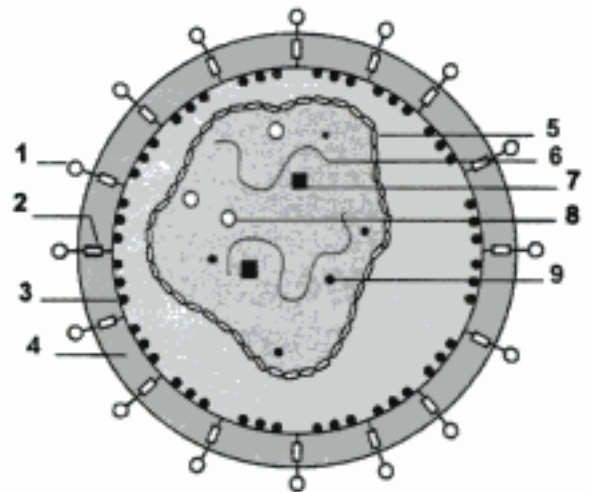


Fig. 1.3

VIH (virus de l'immunodéficience humaine) : virus enveloppé.

Protéines de l'enveloppe : 1. gp120 (glycoprotéine). 2. gp41. 3. p17.

4. Bicouche lipidique. 5. Capside. 6. ARN.

Enzymes virales : 7. Transcriptase. 8. Intégrase. 9. Protéase.

C. Caractères des virus

Les virus sont des *parasites absolus* : dépourvus de cytoplasme et de noyau, ils contiennent toujours un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN), associé à des protéines afin de former une structure symétrique. Ils n'ont pas de système de transcription ni de système de traduction. Leur reproduction dépend de la cellule qu'ils infestent. Ils se multiplient uniquement selon les indications portées par leur ADN ou leur ARN.

Seuls, ils ne possèdent pas de métabolisme. Ils sont simplement porteurs d'une information génétique sous la forme d'ADN ou d'ARN. Cette information génétique ne peut s'exprimer que grâce à la machinerie de synthèse de la cellule infestée.

La multiplication du virus dans une cellule conduit habituellement à la production de nouvelles particules virales : Il peut se former plus de 100 000 particules virales par cellule infectée. Chaque particule virale peut infecter une cellule saine soit de proche en proche, soit à distance. Dans le cas le plus simple (virus à ADN), après une fixation au niveau de récepteurs spécifiques, le virus pénètre dans la cellule, son ADN est incor-

poré dans l'ADN cellulaire où il est dupliqué ou transcrit en ARNm. Cet ARNm est lu par les ribosomes qui synthétisent les protéines virales.

D. Virus à ADN

Il existe deux catégories de virus à ADN. Les *virus à ADN monocaténaire* sont très nombreux chez les animaux et les bactéries, rares chez les végétaux, par exemple les phages M13 qui parasitent les cellules procaryotes, les geminivirus qui parasitent les cellules végétales, ou chez les animaux, les parvovirus (virus des rongeurs), les densovirus (virus des arthropodes), les adénovirus (virus des mammifères). Les *virus à ADN bicaténaires* sont par exemple les adénovirus (dont l'ADN est linéaire), le virus de l'herpès et de la vaccine.

E. Virus à ARN ou rétrovirus

Ce sont des virus dont le génome est de l'ARN : ils parasitent les cellules par exemple des vertébrés. Les virus tumoraux à ARN sont capables de transformer les cellules normales en cellules cancéreuses. On distingue les *virus à ARN positif* et les *virus à ARN négatif*.

Les *virus à ARN positif* sont des virus dont l'ARN peut être directement traduit, exactement comme l'ARN messager (par exemple les phages R17 et MS2 qui parasitent les procaryotes et le virus de la mosaïque du tabac qui parasite les eucaryotes).

Les *virus à ARN négatif* ne sont pas traduits directement : une transcriptase reverse apportée par le virus synthétise, à partir de l'ARN viral, un ADN qui est incorporé dans l'ADN de la cellule hôte puis traduit en ARNm. Il existe deux catégories de virus à ARN négatif : ceux qui contiennent plusieurs molécules d'ARN simple brin comme celui de la grippe (il en contient 8 distincts les uns des autres) et ceux qui ne contiennent qu'une molécule d'ARN simple brin comme celui de la rage ou de la stomatite vésiculaire.

F. Forme

Les virions ou nucléocapsides ont une structure à organisation symétrique qui résulte de l'association d'éléments identiques ou particules virales. Il existe deux types de symétrie :

- la symétrie cubique des virus sphériques ;
- la symétrie hélicoïdale des virus en forme de bâtonnets.

1. Virus à symétrie cubique

Ces virus ont les éléments de symétrie de l'icosaèdre (fig. 1.4) : c'est un solide qui comprend 20 faces (chaque face est un triangle équilatéral ayant rigoureusement les mêmes dimensions que les deux autres) et 12 sommets.

Les adénovirus, responsables des pharyngites, de certaines conjonctivites ou de pneumopathie, représentent le type même des virus à symétrie cubique.

2. Virus à symétrie hélicoïdale

Par exemple, le virus de la mosaïque du tabac (fig. 1.5) est un bâtonnet de 300 nm de longueur sur 18 nm de diamètre. La capside est faite de sous-unités (2 200 molécules protéiques) associées en une hélice simple. L'acide nucléique est une molécule d'ARN de 2 200 nucléotides. L'ARN décrit lui aussi une hélice identique à celle des sous-unités.

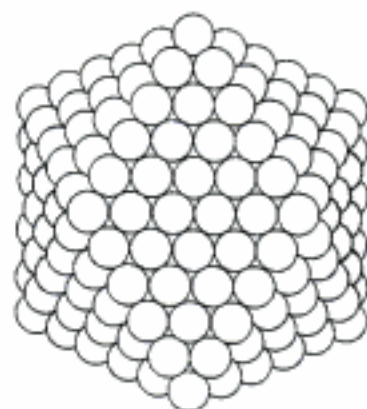


Fig. 1.4

Forme icosaédrique.

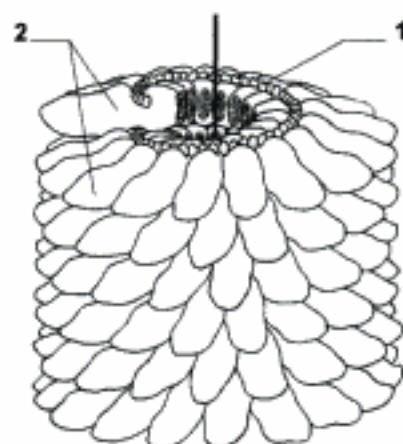


Fig. 1.5

Virus de la mosaïque du tabac.

1. ADN. 2. Capsomère.

POINTS CLÉS

- « Le monde vivant, aussi bien animal que végétal, est constitué par des unités, les cellules. » Présentie par Dutrochet, cette théorie cellulaire prend réellement naissance avec les travaux de Schwann et de Schleiden.
- Il existe deux types de cellules : les procaryotes dont l'ADN n'est jamais séparé par une enveloppe et les eucaryotes dont l'ADN est séparé du cytoplasme par une enveloppe constituée par une double membrane.
- Les cellules eucaryotes sont caractérisées avant tout par une compartimentation morphologique qui souligne la compartimentation d'activités spécialisées. Cette compartimentation a magnifié les possibilités métaboliques, fonctionnelles de la cellule et lui permet d'acquérir des potentialités et des spécialisations hors de la portée des procaryotes.
- Les divers compartiments cellulaires, tous limités par une membrane, sont des organites : chacun d'entre eux étant spécialisé et fonctionnant de manière interactive grâce à des échanges et des systèmes complexes d'intercommunication. Cette compartimentation renforce les potentialités physiologiques de la cellule et lui permet, en s'associant au tissu, de constituer des organes hyperspécialisés.

Les techniques d'étude de la cellule

- I. Les microscopes**
- II. Les techniques de préparations conventionnelles**
- III. L'histochimie**
- IV. Les sondes moléculaires**
- V. La quantification du fonctionnement cellulaire**
- VI. Les cultures cellulaires**
- VII. Les techniques de microdissection**
- VIII. Les techniques d'ultracentrifugation**
- IX. Les techniques de diffraction des rayons X**

Le biologiste dispose actuellement d'un grand nombre de techniques et d'instruments particulièrement adaptés à l'étude de la cellule. Il n'est pas possible de faire, ici, un inventaire complet.

I. Les microscopes

A. Microscope optique ou photonique en lumière transmise

Le microscope optique en lumière transmise permet d'étudier les cellules fixées (tuées sans modifications essentielles de leur structure, en vue d'un examen au microscope) et colorées. Un objet éclairé en lumière transmise est examiné à travers un système optique comprenant un objectif, qui donne une image grossie de l'objet, et un oculaire qui permet l'examen de l'image. Les grossissements atteints sont de l'ordre de 1 500 à 2 000 diamètres, avec un pouvoir séparateur de $1/10^6$ de micromètre. Il est possible aussi de l'employer :

- en lumière réfléchie : l'éclairage est alors vertical, éclairant l'objet de haut en bas ; la lumière réfléchie par l'objet est transmise à l'œil de l'observateur par le système optique du microscope ;
- en fond noir : l'éclairage est latéral ; le fond de la préparation est donc obscur ; seules les particules qui diffractent les rayons lumineux en direction de l'oculaire s'illuminent. Les rayons lumineux n'atteignent pas l'objectif lorsque la préparation microscopique est dépourvue de structure. Lorsque la préparation contient des particules, la lumière est diffractée et certains rayons traversent le système optique du microscope.

B. Microscope polarisant

Le microscope polarisant est un microscope photonique ordinaire pourvu de deux polaroïds (ou nicols) : l'un est placé entre la lumière et l'objet, l'autre dans l'oculaire. Les nicols étant croisés, on obtient normalement l'extinction (la lumière ne parvient pas à l'œil de l'observateur) : mais lorsque des particules ou des structures sont anisotropes, elles apparaissent brillantes et se détachent sur le fond sombre. Ce microscope est surtout utilisé en cristallographie : dans l'étude des cellules, il donne des images de toutes structures dont les molécules sont orientées, par exemple les fibres musculaires, le fuseau mitotique constitué par de nombreux microtubules tous orientés de la même manière, les filaments de myosine du muscle strié, les chloroplastes, les parois cellulaires végétales, la paroi des cellules végétales. Sa résolution est inférieure à celle de la microscopie photonique.

C. Microscope à contraste de phase

Le microscope à contraste de phase est surtout utilisé pour étudier des cellules vivantes, en culture.

Les objets d'amplitude et les objets de phase agissent sur la lumière transmise de deux manières différentes :

- les objets d'amplitude diminuent l'amplitude de la vibration électromagnétique : ils sont visibles en microscopie photonique classique ;
- les objets de phase transparents et réfringents ne sont donc pas visibles en microscopie optique conventionnelle, car ils n'absorbent pas les radiations lumineuses : la vibration réfractée est retardée de $1/4$ de longueur d'onde. L'œil ne décèle pas ce retard de phase. Au cours de l'examen d'une cellule en microscopie photonique ordinaire, l'œil perçoit la somme des ondes incidentes et d'ondes diffractées par l'objet examiné. Le microscope à contraste de phase augmente cette différence de phase de $1/4$ de longueur d'onde et produit ainsi un phénomène dit « phénomène d'interférence » qui provoque une baisse d'amplitude de la lumière transmise : l'objet semble se comporter comme un objet d'amplitude.

D. Microscope à fluorescence

Ce type de microscope permet de voir les molécules qui émettent des photons de longueur d'onde déterminée après excitation par une source lumineuse. Ces molécules portent le nom de fluorochromes. Un microscope optique à fluorescence possède une source de lumière blanche très intense (lampe à mercure). Cette lumière traverse un filtre dit d'excitation, ne laissant passer qu'une fenêtre de longueurs d'onde qui est réfléchi, en direction de l'échantillon biologique, par un miroir dichroïque. Les molécules fluorescentes alors excitées émettent une lumière visible de longueurs d'ondes spécifiques, qui est concentrée par une lentille objectif et sélectionnée sur un filtre d'émission. L'image observée avec le microscope à fluorescence est la somme des images situées en avant et en arrière du plan sur lequel la mise au point a été faite.

Le fluorochrome est fixé par covalence à une protéine dont on souhaite connaître la localisation dans la cellule (comme l'actine, la tubuline). La protéine marquée est injectée dans des cellules vivantes, par exemple en culture. Attention, ce marquage peut empêcher ces protéines marquées

d'intervenir dans les activités cellulaires normales de la cellule. Leur localisation en microscopie à fluorescence est facile, il est possible de suivre leur parcours intracellulaire et ainsi d'étudier les activités dynamiques auxquelles elles participent.

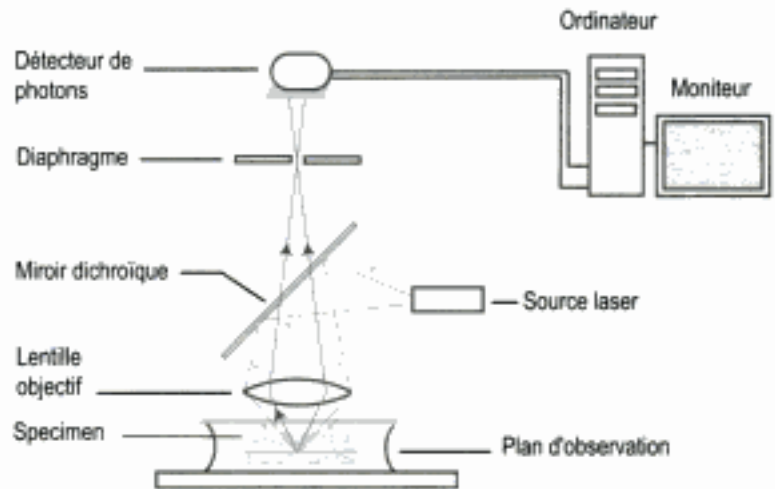
E. Microscope confocal à balayage

Le microscope confocal (fig. 2.1) est un microscope dont la source lumineuse est un laser et qui permet, grâce à un montage optique particulier, d'obtenir uniquement l'image du plan sur lequel la mise au point a été faite.

Fig. 2.1

Principe de la microscopie confocale.

Les rayons d'un faisceau laser sont réfléchis, par un miroir dichroïque, en direction du spécimen. Ce faisceau balaie point par point un plan du spécimen. Les photons diffractés traversent un diaphragme situé dans le plan focal du système optique (d'où l'adjectif confocal pour qualifier ce microscope) : les photons parasites sont donc éliminés tandis que ceux qui traversent le diaphragme gagnent un détecteur de photons relié à un ordinateur. Un moniteur permet de voir l'image numérisée du plan balayé par le faisceau laser. Il est possible de balayer, plan par plan, l'objet à étudier et d'en obtenir des reconstitutions tridimensionnelles.



Un rayon laser balaie très rapidement tous les points du plan focal. L'image de chacun de ces points est captée par un détecteur de photons, numérisée et transmise à un ordinateur (associé au microscope). Il est ainsi possible d'observer une cellule ou une structure cellulaire plan par plan et d'obtenir par reconstitution une image tridimensionnelle : cette technique porte le nom de tomographie photonique. L'apport à la connaissance de la cellule, depuis 1987, date de sa commercialisation, est considérable : il permet de suivre, dans une cellule vivante, une seule ou plusieurs molécules couplées à des fluorochromes. La découverte de la *protéine fluorescente verte* (GFP : *Green Fluorescent Protein*) permet de marquer les protéines au moment de leur synthèse. L'ADN codant pour la GFP est inséré dans la séquence codante du gène de la protéine « X » que l'on souhaite étudier. L'ARNm contient la séquence codante de la protéine « X » et de la GFP : sa traduction aboutit à la formation d'une *protéine de fusion* qui contient la protéine « X » sur laquelle est fixée GFP. Si cette protéine est active, il est alors possible de la suivre facilement dans la cellule.

F. Microscope électronique à transmission (MET)

Le microscope électronique à transmission (fig. 2.2) utilise, à la place de la lumière (rayonnement photonique), un rayonnement électronique. La majorité des MET fonctionne avec une différence de potentiel de 100 kV. En raison de la longueur d'onde du rayonnement électromagnétique qui est de 0,005 nm, le pouvoir séparateur du ME peut être théoriquement 40 000 fois supérieur à celui du microscope optique et deux millions de fois supérieur à celui de notre œil.

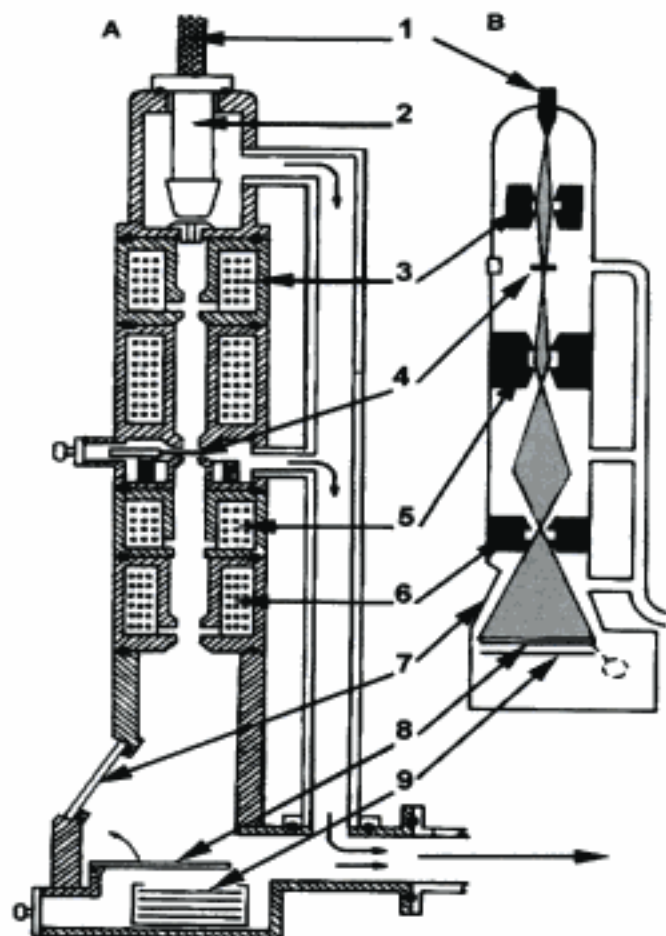


Fig. 2.2

Microscope électronique à transmission.

1. Câble haute tension. 2. Cathode. 3. Condensateur. 4. Objet à étudier. 5. Objectif. 6. Projecteur. 7. Fenêtre d'observation. 8. Écran fluorescent. 9. Plaques photographiques.

Le pouvoir séparateur est théoriquement de 2 nm. L'objet fixé, dont l'épaisseur est inférieure à $0,1\ \mu\text{m}$, est soumis à un bombardement d'électrons. Le microscope électronique est constitué par une colonne à l'intérieur de laquelle est réalisé un vide poussé : les électrons du rayonnement utilisé seraient absorbés par les gaz. Cette colonne contient des lentilles électromagnétiques qui sont, de haut en bas : le condensateur, l'objectif et le projecteur. Le rayonnement électronique se comporte à travers ces lentilles comme un rayonnement photonique à travers les lentilles de verre. Les électrons permettent ainsi d'obtenir une image agrandie de l'objet, image qui se formera sur écran fluorescent. Cet écran est escamotable de façon à permettre un remplacement de cette image par des plaques photographiques ou une caméra numérique.

G. Microscope électronique à balayage (MEB)

Un faisceau d'électrons balaie la surface de cellules ou de tout autre échantillon préalablement recouverts d'un film de platine obtenu par ombrage métallique. La résolution du MEB est de l'ordre de 1 nm. L'échantillon est placé sur des céramiques piézoélectriques, dont la taille change quand on applique un champ électrique. Une précision de déplacement de l'ordre de $0,2\ \text{nm}$ est ainsi obtenue. Il est donc possible de balayer l'objet en le déplaçant par rapport à la pointe avec une très grande précision. L'image est observée sur un moniteur.

H. Microscope électronique à haut voltage

Quelques microscopes électroniques utilisent des différences de potentiel de l'ordre du mégavolt. De tels microscopes permettent d'étudier des coupes épaisses, et par conséquent d'observer la forme tridimensionnelle des organites et surtout leur rapport les uns avec les autres. Par exemple, les mitochondries apparaissent comme des éléments allongés et non circulaires et ovoïdes comme la microscopie électronique classique les montre.

I. Microscope à force atomique utilisant l'effet tunnel

Le microscope à force atomique (AFM : *Atomic Force Microscope*), basé sur l'effet tunnel, utilise le très faible courant électrique qui traverse l'espace entre un échantillon conducteur et une pointe métallique ultra-pointue en tungstène. La pointe se termine par un atome : elle mesure 200 pm de diamètre (un millième de milliardième de mètre). Ce courant varie en fonction de la distance entre l'extrémité de la pointe et la surface de l'échantillon.

La surface de l'échantillon est balayée selon un plan (x, y) parallèle à l'échantillon. Pendant ce balayage, le courant est maintenu constant et les déplacements de la pointe (distance pointe – échantillon) sont enregistrés de telle sorte qu'il est possible d'établir une cartographie de la surface. Cette technique, utilisable au début uniquement pour les conducteurs et les semi-conducteurs, a été adaptée pour le matériel biologique.

II. Les techniques de préparations conventionnelles

Que ce soit pour la MO (microscopie optique) ou la MET, les prélèvements tissulaires ou les cellules sont fixés, inclus, puis débités en coupes (fig. 2.3).

Afin d'obtenir une image, les coupes en MO sont colorées : en MET, elles sont contrastées par des sels de métaux lourds.

A. En microscopie optique

1. Techniques de fixation et d'inclusion

Les cellules sont tout d'abord traitées par un mélange fixateur. Ces mélanges contiennent généralement plusieurs agents fixateurs (formol, acide picrique sublimé, acide osmique) associés ou non à des acides (acide acétique) ou à des sels (bichromate de potassium). Les tissus ou organes à fixer sont plongés dans le mélange fixateur. Les tissus fixés, après lavage puis déshydratation par l'alcool et passage dans le toluène, sont inclus dans la paraffine, puis débités en tranches fines par un microtome. Les coupes sont étalées et collées à l'eau gélatinée sur une lame de verre, puis séchées à l'étuve.

2. Techniques de coloration

Les colorants naturels ou synthétiques utilisés sont des sels neutres comportant un radical acide et un radical basique : si la partie colorante est la base, le colorant est basique, si elle est acide le colorant est acide.

Les diverses parties des tissus fixeront des colorants différents : les structures basophiles (hétérochromatine du noyau) fixent les colorants basiques, les structures acidophiles fixent les colorants acides.

B. En microscopie électronique

Les prélèvements, de très petite dimension (moins de 1 mm), sont plongés dans des aldéhydes tamponnés (paraformaldéhyde et glutaraldéhyde). Cette fixation est suivie d'une post-fixation dans du tétraoxyde d'osmium pour stabiliser les lipides. Les objets sont ensuite rincés puis déshydratés et inclus dans une résine époxy. Le bloc de résine époxy contenant l'objet est taillé, placé dans un porte-bloc de l'ultramicrotome. Les coupes doivent être ultrafines, environ 90 nm d'épaisseur (fig. 2.3). Les coupes sont traitées par des sels de métaux lourds (acétate d'uranyle, citrate de plomb) qui se fixent préférentiellement sur certaines structures : l'acétate d'uranyle se fixe sur les nucléoprotéines contenues dans le noyau, le nucléole ou les ribosomes, le citrate de plomb sur la membrane plasmique ou les membranes des divers organites cellulaires. Les sels fixés absorbent plus ou moins les électrons et renforcent ainsi le contraste de l'image obtenue sur l'écran fluorescent.

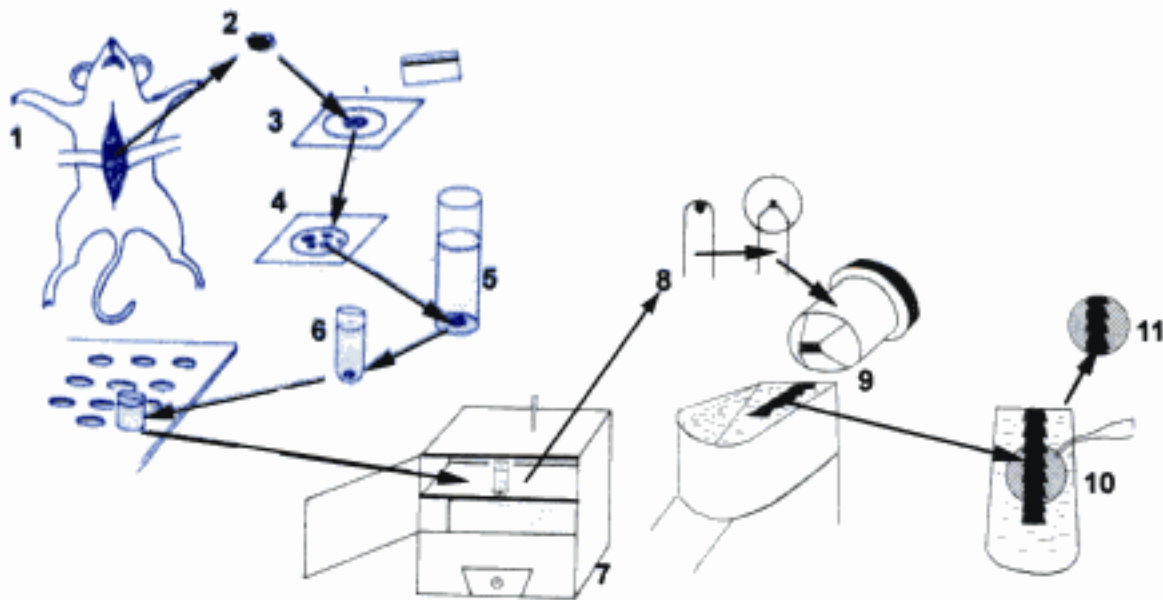


Fig. 2.3

Préparation des tissus à examiner en MET.

1-2. Prélèvement d'un organe. 3-4. L'organe est découpé en fragment de 1 mm³. 5. Fixation du fragment. 6. Le fragment fixé est placé dans une gélule contenant une résine époxy liquide. 7. La résine est polymérisée et durcie par passage dans une étuve. 8. L'extrémité de la gélule est coupée en pyramide. 9. Un ultramicrotome permet de faire des coupes ultrafines qui se disposent en un ruban qui flotte sur de l'eau. 10-11. Les coupes sont recueillies sur une grille afin d'être examinées après traitement par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb.

1. Techniques de coloration négative

Certaines structures très fines (virus, molécules) ne se prêtent pas à l'observation après inclusion en MET. Les techniques de coloration négative permettent de les voir (fig. 2.4).

Avant d'opérer la coloration négative, il est nécessaire de préparer la grille de manière à obturer les trous avec une matière laissant passer les électrons. Pour cela, une goutte de solution de collodion est placée à la

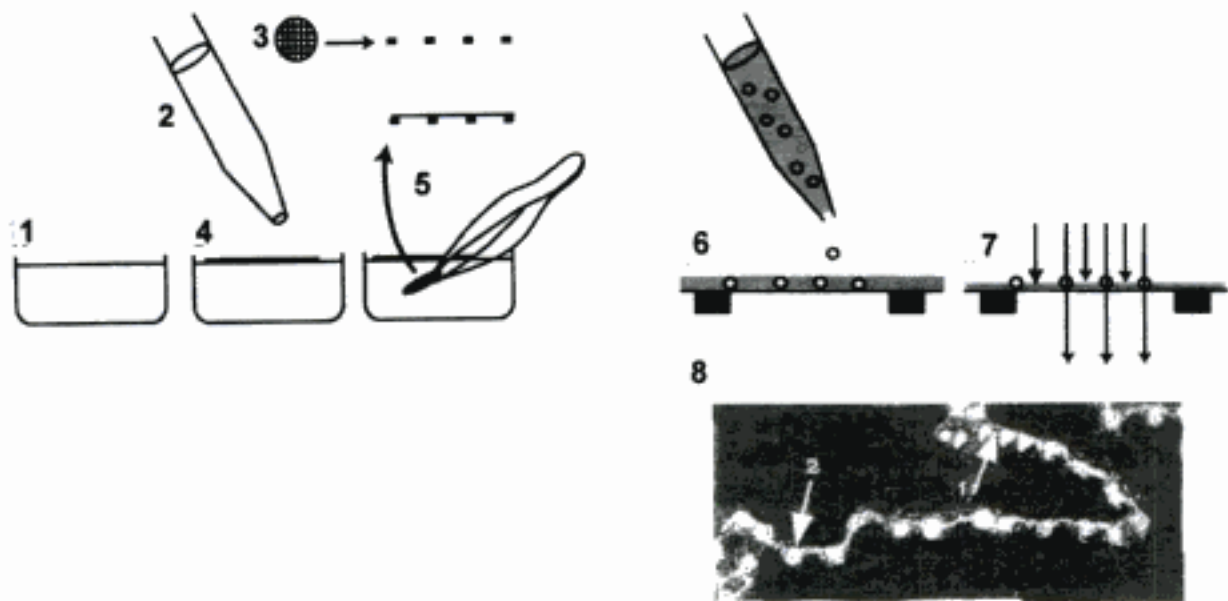


Fig. 2.4

Technique de coloration négative.

1. Eau distillée. 2. Solution de collodion. 3. Grille utilisée en microscopie électronique (à droite de la flèche, vue de la grille en coupe).
4. Une goutte de la solution de collodion est déposée sur l'eau. Un mince film de collodion se forme à la surface de l'eau. 5. Le film de collodion est placé sur la grille. 6. Une solution de phosphotungstate contenant les molécules à étudier est déposée sur le film de collodion.
7. Après séchage, les régions occupées par les molécules, non occupées par le phosphotungstate, laissent passer les électrons.
8. Coloration négative d'une fibre nucléosomique (1. ADN. 2. Nucléosome).

surface de l'eau contenue dans un cristallisateur. Il se forme un film extrêmement fin, que l'on dispose sur la grille. Les substances à étudier en coloration négative sont mises en solution avec du phosphotungstate, qu'elles n'absorbent pas. On dépose cette solution sur la grille. Le phosphotungstate, en séchant, délimite de manière précise les structures à étudier. Partout où il se trouve, les électrons ne peuvent traverser. En revanche, les électrons traversent les structures que l'on veut observer. On obtient donc des images en négatif.

2. Techniques de cryofracture

Le tissu à traiter par cryofracture (fig. 2.5) est disposé sur un support, congelé rapidement dans du fréon liquide, puis placé dans une cloche sous vide. Le spécimen est fracturé et la surface libérée est soumise à une ionisation qui dépose du platine suivant un angle d'environ 45° , et du carbone suivant un angle de 90° (ombrage). Le platine et le carbone, recouvrant la surface de l'échantillon, constituent une *réplique* de la surface. Après digestion enzymatique ou chimique de l'échantillon, la réplique isolée est observée en microscopie électronique.

III. L'histochimie**A. Définition**

L'histochimie est l'étude de la composition chimique des cellules, des divers tissus vivants (épithélium de revêtement, glandulaires, musculaires, conjonctifs et osseux, sang et lignées hématopoïétiques) et des réactions chimiques cellulaires et tissulaires au cours des processus métaboliques.

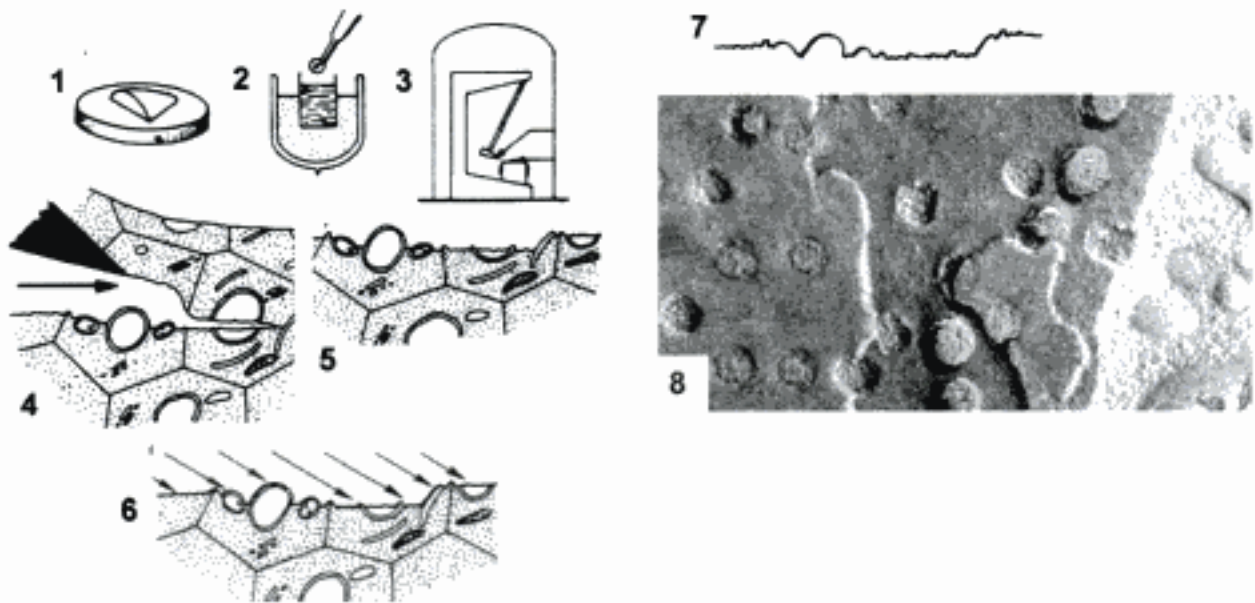


Fig. 2.5

Cryodécoupage.

1. Tissu placé sur un support. 2. Congélation au fréon liquide. 3. Le tissu est placé dans une cloche sous vide. 4. Le tissu congelé est fracturé. 5. Surface du tissu. 6. Ombrage au carbone de la surface libérée. 7. Réplique de la surface isolée par digestion enzymatique du tissu. 8. Photomicrographie de la réplique montrant l'enveloppe d'un noyau et ses pores.

L'histochimie regroupe de très nombreuses techniques qui peuvent caractériser les constituants de la cellule (métaux, enzymes, acides nucléiques, glucides, lipides, protéines, etc.).

B. Techniques utilisées en histochimie

Les techniques histochimiques permettent de reconnaître spécifiquement des *groupes chimiques* ou des *substances* et de les localiser d'une manière précise. Elles offrent la possibilité d'étudier et de connaître la répartition des acides nucléiques, des lipides, des glucides, des protéines dans la cellule, de localiser un très grand nombre d'enzymes. La précision est parfois remarquable, puisqu'un histologiste peut, sur une coupe, localiser une granulation de bleu de Prusse de 1 nm de diamètre ce qui correspond à 1×10^{-6} γ (gamma = 1/1 000 000^e de gramme).

D'une manière générale, les techniques histochimiques peuvent être :

- non spécifiques : elles détectent et localisent les molécules ayant des propriétés chimiques communes (recherche des acides nucléiques dans la cellule).
- spécifiques : elles détectent et localisent une molécule particulière dans la cellule (ex. : détection de la tubuline).

Les techniques histochimiques permettent de colorer des groupes chimiques, de localiser des enzymes, d'étudier les fonctions cellulaires, de localiser de manière précise des molécules spécifiques.

1. Détection des groupes chimiques spécifiques

L'utilisation de colorants liposolubles permet de localiser les *lipides* dans les cellules. Mais, les lipides sont solubles dans les alcools et dans le toluène utilisés au cours de l'inclusion à la paraffine (une technique de

préparation des tissus à examiner pour la MO). Il est donc nécessaire de congeler le tissu afin de pouvoir le couper en fines tranches de 10 à 15 μm d'épaisseur : de telles coupes sont obtenues à l'aide d'une microtome à congélation. Les coupes obtenues sont plongées dans des colorants liposolubles (noir Soudan B ou rouge Soudan).

2. Localisation des enzymes actives

L'étude de la distribution d'une enzyme (par exemple les phosphatases acides et alcalines, les déshydrogénases, les ATPases) se fait sur des coupes de tissus frais préparées au microtome à congélation. Ces coupes sont placées dans un milieu contenant le substrat de l'enzyme. L'enzyme réagit avec le substrat : il se forme un produit de réaction primaire insoluble qui peut être mis en évidence par coloration.

3. Marquage des molécules

a. Définition

Le marquage des molécules est la fixation, sur une molécule, d'un signe de reconnaissance facilement identifiable qui autorise le suivi d'un composé dans un organisme, un organe, un tissu ou dans la cellule.

Le marquage utilise soit les isotopes radioactifs (autohistoradiographie), soit des composés fluorescents.

b. Marquage par des isotopes radioactifs

Une molécule marquée est suivie beaucoup plus facilement dans l'organisme ou dans un tissu. Ainsi, le marquage de la cystéine par du soufre 35 permet de connaître le chemin qu'elle parcourt dans le cartilage. La cystéine marquée est injectée à plusieurs rats : ils sont sacrifiés à des intervalles réguliers après l'injection. Le cartilage prélevé est préparé pour un examen en microscopie optique ou en MET. Une émulsion photographique liquide est versée (en chambre noire) sur la préparation : en séchant, elle forme une pellicule sur les cellules. Les régions occupées par l'isotope réduisent l'argent à leur contact. La coupe est traitée, après plusieurs jours d'exposition, comme une pellicule photographique (révélateur puis fixateur), de telle sorte que les grains d'argent réduit apparaissent. Les techniques d'autohistoradiographie sont très efficaces pour étudier la répartition de nombreuses molécules, leur déplacement ainsi que les fonctions cellulaires.

c. Marquage par des substances fluorescentes

Un analogue fluorescent résulte du couplage de la molécule à étudier avec un colorant fluorescent. Cet analogue est introduit dans la cellule par micro-injection avec une micropipette de verre dont l'extrémité a un diamètre de l'ordre du micron. Il est ainsi facile de suivre, grâce à la microscopie à épifluorescence ou confocale, la dynamique des microtubules en injectant un analogue fluorescent de la tubuline (il est constitué par le dimère $\alpha\beta$ de tubuline couplé à une molécule de rhodamine). Les analogues se polymérisent en MT qu'il est alors possible de voir individuellement bien que leur diamètre est à peine supérieur au pouvoir de résolution de la microscopie optique.

4. Techniques immunocytochimiques

L'immunocytochimie est l'application à la cellule de techniques fondées sur l'antigénicité des protéines afin de les localiser et de suivre leur évolution.

Elle permet de révéler spécifiquement des molécules qui ne pourraient l'être avec les plus puissants microscopes électroniques. Il est possible actuellement de produire des anticorps contre n'importe quel constituant cellulaire. Il devient donc relativement facile de les localiser en microscopie confocale ou en microscopie électronique en utilisant les techniques immunocytologiques.

a. Préparation des anticorps

Un anticorps (fig. 2.6), spécifique de l'antigène (protéine) à étudier, est préparé par injection de cet antigène purifié à un animal appartenant à une autre espèce que celle dont on a extrait l'antigène injecté. L'animal traité développe une réaction immunologique : des macrophages phagocytent la protéine, la fragmentent en peptides et les exposent à leur surface grâce au CMH II (complexe majeur d'histocompatibilité de type II). Les peptides sont présentés aux lymphocytes T. Chacun des peptides présentés déclenche la multiplication de lymphocytes T différents. Les lymphocytes T activent ensuite les lymphocytes B qui se transforment en cellules productrices d'anticorps, les plasmocytes.

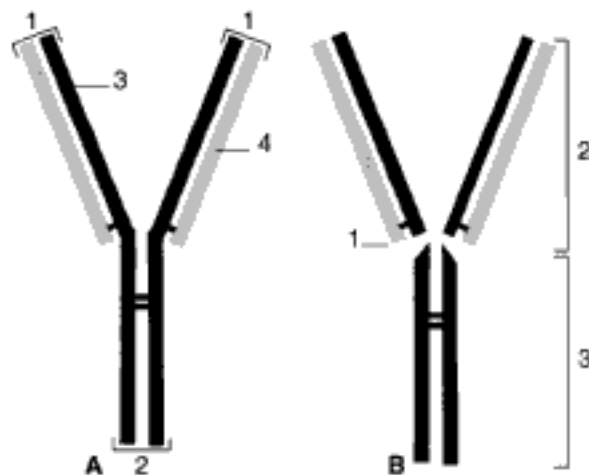


Fig. 2.6

Représentation schématisée d'un anticorps (d'après Poirier et coll.).

A. 1. Sites de liaison des antigènes. 2. Site de liaison du complément.

3. Chaîne lourde. 4. Chaîne légère.

B. 1. La papaine divise la molécule en un fragment Fab (*Fragment antigen binding* ; fragment de liaison aux antigènes) et un fragment complément Fc.

1. Zone de clivage induit par la papaine. 2. Fragment Fab. 3. Fragment Fc.

L'anticorps ainsi obtenu se fixe sur la protéine qui est à l'origine de sa fabrication.

b. Marquage de l'anticorps

Afin de visualiser le complexe antigène-anticorps, on associe à l'anticorps un système marqueur (ou révélateur) composé d'une molécule détectable en microscopie :

- une substance fluorescente (par exemple l'isothiocyanate de fluorescéine) : technique d'*immunofluorescence* utilisable uniquement pour la microscopie photonique ;

- une enzyme (peroxydase du raifort, phosphatase alcaline). La visualisation du marqueur se fait par la production de précipité coloré par l'enzyme : technique immunoenzymologique utilisable en microscopie photonique et électronique ;
- marqueurs métalliques (ferritine, or colloïdal) utilisés essentiellement en microscopie électronique car ils sont spontanément opaques aux électrons.

c. Technique de détection

► Immunocytochimie directe

Les anticorps repérables par leur marqueur se fixent sur leur antigène (fig. 2.7A). Le complexe antigène-anticorps-marqueur est alors détectable en microscopie.

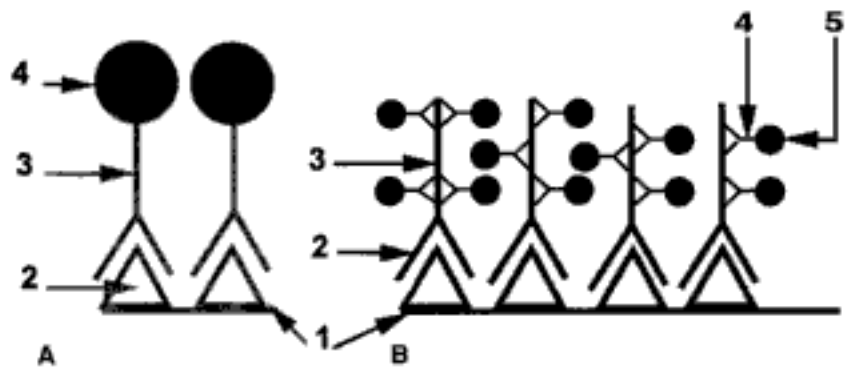
► Immunocytochimie indirecte

Elle permet d'augmenter la sensibilité de la réaction, en combinant deux types d'anticorps : les anticorps anti protéine (anticorps primaires) qui ne sont pas porteurs de marqueurs et des anticorps anti-anticorps primaires (anticorps secondaires) porteur de marqueurs. La préparation est d'abord traitée par des anticorps primaires : ils se combinent avec la protéine X puis les anticorps secondaires se fixent alors sur les anticorps primaires (fig. 2.7B).

Fig. 2.7

Les techniques d'immunofluorescence (d'après Poirier et coll.).

- A. Mise en évidence directe.** 1. Membrane plasmique. 2. Antigène à localiser. 3. Anticorps anti-A. 4. Molécule fluorescente.
- B. Mise en évidence indirecte.** 1. Membrane plasmique. 2. Antigène A à localiser. 3. Anticorps primaire anti-A. 4. Anticorps secondaire (anti-anticorps anti-A). 5. Molécule secondaire marquant l'anticorps secondaire.



IV. Les sondes moléculaires

A. Définition

Une sonde moléculaire est une molécule qui permet de localiser une molécule dans la cellule, d'explorer les structures d'une cellule, de localiser une séquence recherchée sur un acide nucléique. Les molécules utilisées comme sondes sont soit des anticorps, soit des antigènes pour les protéines, soit des acides nucléiques pour étudier les complémentarités séquentielles d'acides nucléiques.

B. Sondes d'acides nucléiques

Les sondes d'acides nucléiques permettent de localiser dans la cellule des séquences d'acides nucléiques complémentaires de celles de la sonde utilisée. Les sondes sont des molécules d'acides nucléiques marquées (soit par des isotopes radioactifs, soit par des composés fluorescents ou non fluorescents) ou non marquées.

Les sondes peuvent être :

- de l'ADN monobrin ;
- de l'ADN double brin ;
- un ARNm (ribosonde) ;
- des oligonucléotides synthétiques.

1. Sondes d'ADN marquées utilisées *in vivo* (fig. 2.8)

Afin de pouvoir les suivre dans la cellule, les sondes sont marquées :

- par des isotopes radioactifs (tritium ou phosphore radioactif : ^3H ou ^{32}P ou ^{33}P) pour les *sondes chaudes* ;
- par des composés fluorescents ou non fluorescents (biotine ou enzymes comme la phosphatase alcaline) pour les *sondes froides*.

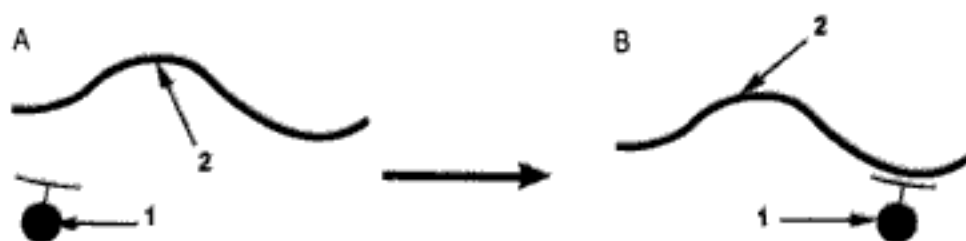


Fig. 2.8

Sonde d'ADN marquée (d'après Poirier et coll.)

A. 1. Sonde marquée. 2. ADN monobrin.

B. La sonde marquée se fixe sur la séquence dont les bases complémentaires sont complémentaires de la cellule qu'elle porte. La fixation de la sonde marquée permet de localiser une séquence déterminée de nucléotides.

Les sondes (fig. 2.8) qui se sont combinées à des brins complémentaires sont mises en évidence :

- par autoradiographie pour les sondes chaudes ; un film de gélatine photographique est déposé (en chambre noire) sur les préparations. L'émission de radiations réduit les sels d'argent en grains d'argent. Le comptage des grains d'argent permet une analyse semi-quantitative (technique utilisée également en MET) ;
- par la microscopie en fluorescence pour les sondes froides marquées par des composés fluorescents ;
- par des anticorps pour les enzymes.

2. Sondes d'ADN monobrin marquées utilisées *in vitro*

Pour obtenir une sonde d'ADN monobrin, il convient de séparer les deux brins d'ADN par dénaturation par une température supérieure à 80°C ou par un pH supérieur à 11,3. Les ultraviolets permettent de suivre la dénaturation de l'ADN. L'absorption des UV (ultraviolet) d'une longueur d'onde

de 260 nm (absorbance 260 ou A260) est faible pour l'ADN non dénaturé. A260 augmente au cours de la dénaturation. Cette variation de A260 est représentée par une courbe avec en ordonnées les valeurs relatives de A260 et en abscisses la température : une telle courbe porte le nom de *courbe de fusion*. La température de fusion T_m est atteinte lorsque l'augmentation de A260 atteint la moitié de sa valeur maximum. La valeur de la température de fusion est dépendante de la séquence nucléotidique.

Les molécules d'ADN simple brin possèdent la faculté de se renaturer (de se recombinaison par appariement des bases à une séquence complémentaire) à une température inférieure de 25 °C à la valeur de la T_m et dans un milieu dont la concentration en NaCl est de 0,15 à 0,50 mM. Les ADN dénaturés dont on souhaite connaître les séquences nucléotidiques sont placés en solution puis filtrés sur un filtre de cellulose. Les squelettes pentose-phosphate les fixent fortement tout en laissant les bases libres. Le filtre porteur des molécules d'ADN simple brin est alors plongé dans une « solution d'hybridation » contenant une sonde d'ADN. Après renaturation, les molécules simple brin qui restent libres sont éliminées par une DNase spécifique de l'ADN simple brin.

Ces techniques sont également appliquées à l'ARN sur cellules fixées : elles permettent par exemple de détecter la présence d'un ARN messager spécifique de tel ou tel type cellulaire.

3. Mise en évidence des régions non complémentaires de l'ADN

L'étude en microscopie électronique des molécules d'ADN renaturé permet de comparer les molécules d'ADN et de détecter les séquences conservées, dénaturées ou absentes (délétées). Lorsqu'il existe, pour deux molécules d'ADN, des régions non homologues (qui diffèrent par leur séquence nucléotidique), la technique d'hybridation *in situ* reconstitue des molécules d'ADN hybride contenant autant de régions simple brin que de régions différentes. Ainsi, supposons que deux molécules d'ADN (double brin) ne diffèrent que par une seule région. La dénaturation et la renaturation d'un mélange de ces deux molécules d'ADN produit des hétéroduplex, c'est-à-dire des molécules hybrides qui contiennent une région où l'ADN est simple brin. De telles molécules sont parfaitement visibles en microscopie électronique. L'application de ces techniques à une molécule d'ADN coupée en petits fragments permet, entre autres, de déceler la répétitivité de certaines séquences, de localiser des séquences spécifiques, d'établir les parentés géniques possibles entre divers organismes, de reconnaître des espèces particulières d'ADN.

V. La quantification du fonctionnement cellulaire

A. Étude de la concentration ionique intracellulaire

Il existe, entre deux microélectrodes introduites dans la même cellule, une différence de potentiel mesurable qui dépend des propriétés de diffusion de l'ensemble des ions contenus dans la cellule. Il est possible d'interrompre la diffusion ionique en appliquant un champ électrique opposé au gradient de concentration. Les microélectrodes intracellulaires sont en verre : elles possèdent une extrémité dont le diamètre est de quelques dixièmes de microns. Afin de déterminer la concentration d'un ion détec-

miné, il faut utiliser une électrode qui n'est perméable qu'à cet ion. L'électrode est remplie d'une solution de KCl à une concentration connue, dans laquelle plonge un fil d'argent. L'extrémité effilée est obturée par une résine échangeuse d'ions, perméable uniquement à l'ion dont on souhaite connaître la concentration. L'autre microélectrode est une microélectrode de référence. L'intensité du courant électrique continu, appliqué pour s'opposer à la diffusion, est proportionnelle à la concentration ionique intracellulaire : il est donc possible de mesurer facilement la concentration intracellulaire des ions Ca^{++} , Cl^- , H^+ , Mg^{++} , Na^+ .

B. Patch-clamp

Le patch-clamp est une technique qui permet d'étudier le fonctionnement des canaux ioniques. Cette technique (fig. 2.9) consiste à appuyer l'extrémité d'une électrode (un peu moins fine que celles décrites dans le paragraphe précédent) contre la membrane plasmique.

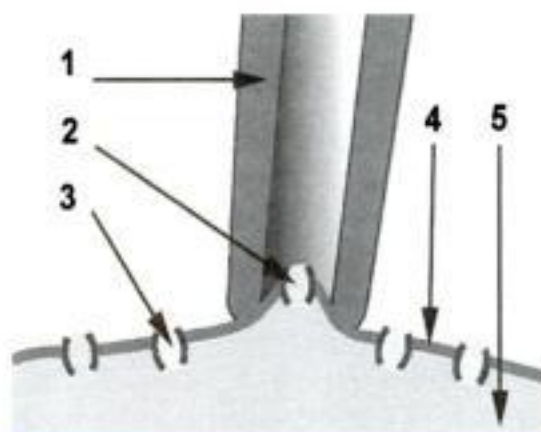


Fig. 2.9
Patch-clamp.

1. Microélectrode. 2. Canal ionique isolé dans l'électrode. 3. Canal ionique. 4. Membrane plasmique. 5. Cytoplasme.

Ce patch (pièce) de la membrane plasmique est isolé du reste de la membrane par la paroi de la microélectrode qui n'est pas conductrice. Pour effectuer les mesures, il faut « bloquer » (*clamp*) les variations du voltage des régions situées de part et d'autre de la « pièce ». Les signaux recueillis sont transmis à un système d'amplification, ce qui permet de déterminer le potentiel de membrane de la fraction membranaire isolée (patch) et de suivre en temps réel le fonctionnement des canaux ioniques et de déterminer les conditions de leur fonctionnement.

C. Stéréologie

La stéréologie regroupe des techniques

de *picture element* ; élément d'une image). Divers logiciels adaptés à l'analyse d'image (analyse de forme, calcul de surface, reconstruction tridimensionnelle à partir d'une série de coupes) donnent des résultats quantifiés.

E. Cytométrie à flux continu

Le trieur de cellules par fluorescence (FACS : *Fluorescence Activated Cell Sorter*) sépare les cellules en fonction de leur fluorescence (fig. 2.10).

Supposons que nous souhaitions isoler les cellules porteuses d'une protéine membranaire X de celles qui n'en sont pas porteuses. La suspension cellulaire contenant ces deux types cellulaires est traitée par un anticorps anti-X associé à une molécule fluorescente.

Cette solution cellulaire est mélangée avec une solution tampon qui servira de milieu d'entraînement. Les cellules sont dirigées dans une canule qui ne laisse passer qu'une cellule à la fois. Un rayonnement laser illumine chaque cellule au moment de son passage. La lumière diffusée par la cellule qui reçoit le rayonnement est analysée. Puis, la suspension cellulaire circule dans une canule vibrante qui la divise en gouttelettes contenant une seule cellule. Au moment de leur formation, les gouttelettes reçoivent une charge électrique en fonction de la fluorescence cellulaire. Puis les gouttelettes traversent un champ électrique : les gouttelettes sans charge ou de charge moindre sont déviées tandis que celles qui contiennent la charge optimum sont recueillies.

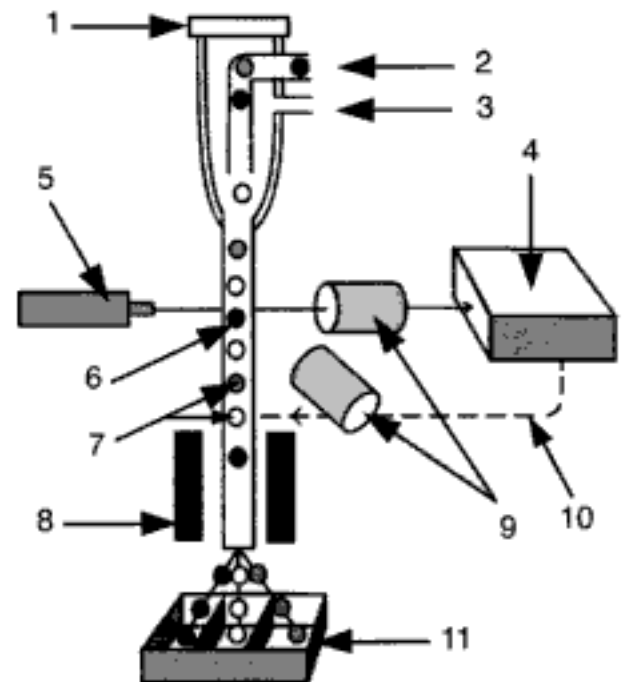


Fig. 2.10

Cytométrie de flux.

1. Vibrateur à ultrasons. 2. Suspension cellulaire. 3. Manchon liquide. 4. Analyseur. 5. Laser. 6. Gouttelettes chargées positivement. 7. Gouttelettes chargées négativement. 8. Champ électrique. 9. Détecteurs. 10. Signal de charges. 11. Collecteur.

Les techniques d'analyse de la cellule donnent des indications précises sur la concentration intracellulaire en ions (par microélectrodes), permettent d'analyser le fonctionnement des canaux ioniques (patch-clamp), de compter les cellules et de les séparer les unes des autres selon des critères préalablement fixés.

VI. Les cultures cellulaires

Les cultures cellulaires se pratiquent :

- soit sur des cellules en suspension (cultures de cellules dissociées) ;
- soit sur des milieux de culture disposés dans des boîtes de Pétri.

Les cellules normales cultivées se multiplient rapidement : en quelques jours la totalité du milieu est recouverte, les mitoses s'arrêtent, les cellules meurent. Ce mécanisme d'arrêt est un mécanisme décrit sous les noms d'inhibition de contact qui dépend de la transmission de signaux entre les cellules cultivées. Afin de maintenir les cellules en vie, il est nécessaire de prélever quelques cellules (avant qu'elles ne meurent) et de les mettre en culture dans une autre boîte (repiquage). De repiquage en repiquage, il est possible de conserver des cellules longtemps : mais elles ne sont pas immortelles. Il est possible de réaliser des cultures à partir d'une seule cellule. Toutes les cellules issues de la multiplication d'une seule cellule constituent un clone : elles possèdent toutes le même patrimoine génétique. Les cellules cancéreuses ont perdu l'inhibition de contact. L'arrêt des divisions et leur mort sont conditionnés uniquement par l'appauvrissement du milieu de culture. Des repiquages successifs les maintiennent en vie : elles sont devenues immortelles. L'examen en contraste de phase des cellules en culture a apporté une contribution considérable à la connaissance du fonctionnement de la cellule. Ces techniques permettent en effet :

- d'étudier les cellules vivantes (humaines, par exemple) soumises à des conditions variées, de les cinématographier et d'observer leur réaction à des agents chimiques ;
- de suivre le déroulement de la mitose, dans les conditions normales ou après application de substances antimitotiques ;
- de réaliser des caryotypes, étude des chromosomes à partir de la culture des leucocytes ;
- d'observer les cellules cancéreuses et leur comportement ;
- de maintenir des virus et de fabriquer des vaccins, etc.

Les cultures cellulaires offrent la possibilité de comprendre le fonctionnement cellulaire et de poursuivre des expérimentations sur du matériel vivant en dehors de l'organisme dont elles sont issues.

VII. Les techniques de microdissection

La microdissection (ou microchirurgie) est une micromanipulation qui consiste à disséquer des organismes microscopiques, des cellules vivantes : c'est la chirurgie de la cellule. Cette microdissection se fait grâce à des micro-outils (micropipettes, microbistouris) fabriqués à l'aide de microforges. La main, pour des raisons de précision, ne peut guider ces micro-outils. Il est nécessaire d'employer un micromanipulateur. La microdissection permet d'enlever un noyau d'une cellule, de l'introduire dans une autre, de couper des cellules en plusieurs fragments, d'injecter des produits dans le cytoplasme, de couper le fuseau mitotique, etc. Les techniques de microchirurgie utilisent aussi des faisceaux de rayons X ou des rayons laser, des rayons ultraviolets qui provoquent des destructions électives de parties de cellules inaccessibles à la microdissection. L'étude de l'évolution ultérieure des cellules ainsi traitées apporte de nouvelles connaissances sur le fonctionnement de la cellule.

VIII. Les techniques d'ultracentrifugation

La centrifugation de broyats cellulaires (fig. 2.11) à des vitesses supérieures à 100 000 tours/min offre la possibilité d'isoler des particules de densité infime puisque la force centrifuge est comprise entre 100 000 et 500 000 g. Un tissu est broyé mécaniquement dans une solution de saccharose de façon à donner un homogénat (suspension homogène).

A. Centrifugation zonale

Les divers organites cellulaires diffèrent les uns des autres aussi bien par leur taille que par leur densité. Les éléments les plus gros et les plus denses sédimentent plus rapidement que les autres structures.

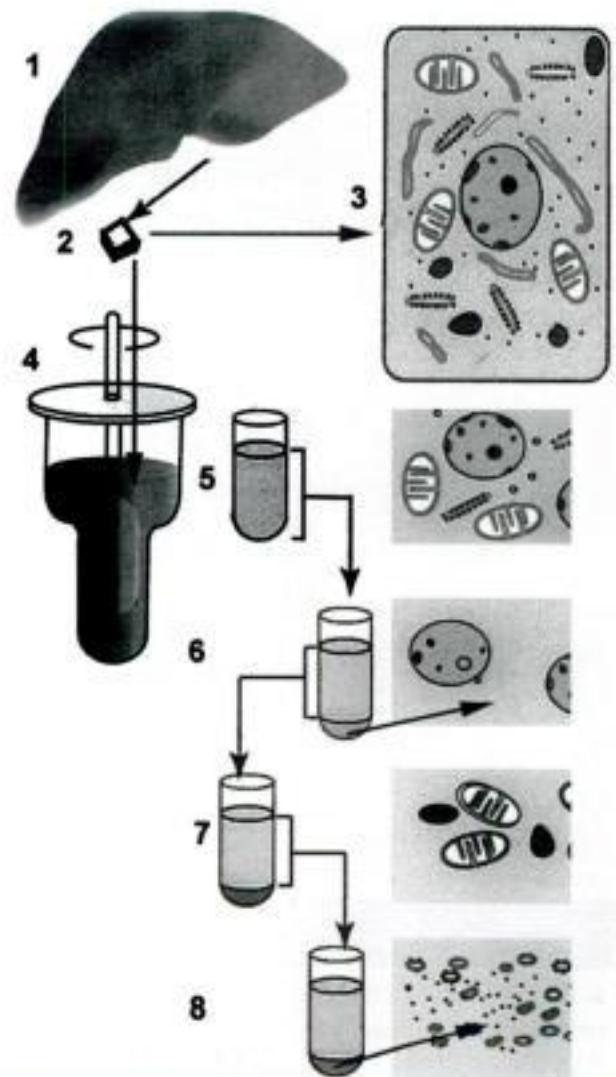


Fig. 2.11

Ultracentrifugation différentielle.

Le prélèvement (2) d'un organe (1) est broyé puis homogénéisé. L'homogénat (5) qui contient tous les organites des cellules du prélèvement (3) est placé dans une ultracentrifugeuse (4). Il est soumis à une centrifugation de 600 g pendant 10 minutes. Le culot de centrifugation contient les noyaux cellulaires (ils sont recueillis par remise en suspension) : le surnageant renferme tous les autres organites de la cellule. Ce surnageant (6) est isolé, puis centrifugé à 15 000 g pendant 5 minutes : le culot de centrifugation contient les mitochondries, les lysosomes, les peroxysomes. Le surnageant obtenu (7) est centrifugé à 100 000 g pendant 60 minutes : le culot contient la membrane plasmique, la fraction microsomale (RE fragmenté) et des polyribosomes. Le surnageant (8) est centrifugé à 300 000 g pendant 2 heures : le culot contient des sous-unités ribosomales et de petits polyribosomes. Le surnageant contient la fraction dite soluble du cytosol (la dernière étape de l'ultracentrifugation n'est pas représentée).

B. Centrifugation isopycnique

Les fractions obtenues par la centrifugation zonale ne sont pas parfaitement pures. Pour améliorer les résultats, il convient de soumettre ces fractions à une centrifugation isopycnique, c'est-à-dire une centrifugation à l'équilibre en gradient de densité. Une solution de saccharose ou de glycérol est préparée de telle sorte que la concentration la plus élevée se

située au fond et la moins élevée en haut du tube à centrifuger. La fraction à étudier est placée dans ce tube qui est soumis à une centrifugation très élevée (40 000 tours/min) pendant plusieurs heures. Chaque élément contenu dans le tube flotte alors à sa position d'équilibre. Cette position d'équilibre correspond à une zone du tube où la densité du liquide est égale à celle de l'élément concerné. Le contrôle de pureté se fait en microscopie électronique. Le contrôle de contamination éventuelle s'obtient par une recherche des marqueurs spécifiques de chacun.

Les techniques de centrifugation zonale et isopycnique permettent d'isoler des culots purs d'organites en fonction de la vitesse de centrifugation. Elles offrent la possibilité de déterminer avec précision la composition biochimique des constituants cellulaires.

C. Purification des fractions obtenues par les techniques d'immunologie

Les membranes de chacun des organites portent des molécules protéiques spécifiques. Il est donc possible de purifier les fractions obtenues par ultracentrifugation en utilisant des anticorps spécifiques des protéines membranaires contenues dans ces fractions. Par exemple, des anticorps anti-clathrine sont fixés sur des bactéries : ces anticorps se combinent sélectivement aux molécules de clathrine. Dans une fraction ne contenant que des membranes, seules les membranes des vésicules à clathrine sont capturées.

IX. Les techniques de diffraction des rayons X

Elles permettent de déterminer la structure tridimensionnelle d'une molécule. Les rayons X sont diffractés lorsqu'ils rencontrent des obstacles de faibles dimensions. Ainsi, selon l'espacement et la disposition des atomes dans une molécule, les rayons X sont déviés de manière différente. Cette méthode de diffraction aux rayons X a notamment permis de déterminer la structure en double hélice de la molécule d'ADN.

POINTS CLÉS

► La microscopie optique classique utilise la lumière transmise : elle donne des images de structures fixées et colorées avec un pouvoir séparateur de $2/10^6$ de μm et un grossissement maximum de 2 000 diamètres. Le microscope à contraste de phase est surtout utilisé pour observer les cellules vivantes en culture car il permet de voir nettement les mitochondries, le noyau et diverses autres structures cellulaires. Le microscope polarisant nous révèle les structures anisotropes. Le microscope à fluorescence nous montre les substances spontanément fluorescentes ou colorées par des molécules fluorescentes.

► Le microscope à fluorescence confocale isole l'image d'un plan d'un objet (tomographie photonique) sans superposition avec les autres plans.

► Le MET permet théoriquement d'atteindre des résolutions de l'ordre des distances interatomiques : la résolution est en pratique de 0,5 à 1 nm. Le MEB donne des images de la surface des objets. Le microscope à effet tunnel précise la structure et l'organisation des molécules.

- La fixation conserve la structure des cellules. L'inclusion à la paraffine pour la MO, dans les résines pour la MET, permet la réalisation de coupes fines. L'utilisation de sels de métaux lourds en MET contraste les structures et les rend facilement visibles. En MET, la coloration négative facilite l'examen des grosses molécules : les techniques de cryofracture et de cryodécapage permettent d'observer leur disposition.
 - Les techniques d'immunofluorescence utilisent des anticorps spécifiques liés à une substance immunofluorescente pour localiser les protéines qui ont été utilisées pour fabriquer ces anticorps. Ces techniques donnent des préparations temporaires et sont inexploitable en MET. L'immunoenzymologie utilise des complexes anticorps-enzymes dont la partie enzymatique peut être facilement mise en évidence. *L'application de ces techniques à une molécule d'ADN coupée en petits fragments permet, entre autres, de déceler la répétitivité de certaines séquences, de localiser des séquences spécifiques, d'établir les parentés géniques possibles entre divers organismes, de reconnaître des espèces particulières d'ADN. Ces techniques sont également appliquées à l'ARN sur cellules fixées : elles permettent, par exemple, de détecter la présence d'un ARN messager spécifique dans tel ou tel type cellulaire.*
 - Les techniques d'hybridation utilisent des molécules d'acides nucléiques marquées afin de localiser dans la cellule les séquences complémentaires (de type ADN ou ARN). Ces techniques permettent également d'établir des parentés géniques possibles entre divers organismes.
 - Les techniques d'analyse de la cellule donnent des indications précises sur la concentration intracellulaire en ions (par microélectrodes), permettent d'analyser le fonctionnement des canaux ioniques (patch-clamp), de compter les cellules et de les séparer les unes des autres selon des critères préalablement fixés.
 - Les cultures cellulaires offrent la possibilité de comprendre le fonctionnement cellulaire et de poursuivre des expérimentations sur du matériel vivant en dehors de l'organisme dont elles sont issues.
 - Les techniques de centrifugation zonale et isopycnique permettent d'isoler des culots purs d'organites en fonction de la vitesse de centrifugation. Elles offrent la possibilité de déterminer avec précision la composition biochimique des constituants cellulaires.
-

Organisation de la membrane plasmique

- I. **Structure de la membrane plasmique**
- II. **Composition biochimique de la membrane plasmique**
- III. **Les lipides membranaires**
- IV. **Les protéines membranaires**
- V. **Les glucides membranaires ou le *cell coat***
- VI. **Rapport de la membrane plasmique avec la matrice extracellulaire**

La membrane plasmique est une structure organisée, complexe, asymétrique, indispensable à la vie de la cellule, une frontière séparant le milieu cellulaire et extracellulaire, constituée par une *bicouche lipidique*, par des *protéines transmembranaires*, des protéines périphériques associées à la surface de la bicouche et par le *cell coat* qui recouvre sa face externe et qui contient les domaines glycosylés des glycoprotéines, des glycolipides et des protéoglycanes membranaires.

I. Structure de la membrane plasmique

A. En microscopie électronique à transmission

Les coupes de membrane plasmique, observées en microscopie électronique à transmission, montrent une structure constituée par deux lignes denses colorées en noir, disposées de part et d'autre d'une ligne plus large, claire (disposition en rail de chemin de fer) (fig. 3.1).

Chacune de ces lignes correspond à la coupe de chacun des trois feuilletts (structure tripartite). Les feuilletts denses ont une épaisseur de 2,5 nm et le feuillet central de 3 nm. Ces valeurs varient faiblement en fonction du type cellulaire et des techniques de préparation.

Le feuillet externe (en relation avec le milieu extracellulaire) est doublé par un feutrage fibrillaire glucidique, le *cell coat* (fig. 3.2), dont l'épaisseur est extrêmement variable d'un type cellulaire à un autre. Le feuillet interne est en relation avec le milieu intracellulaire ou cytosolique.

Les cellules, étudiées en MET, sont, après fixation, imprégnées par le tétraoxyde d'osmium (OsO_4). Cette molécule, opaque au rayonnement électronique, se fixe sur les régions polaires des molécules lipidiques, contenues dans les feuilletts, qui possèdent une affinité pour OsO_4 (osmiophilie).

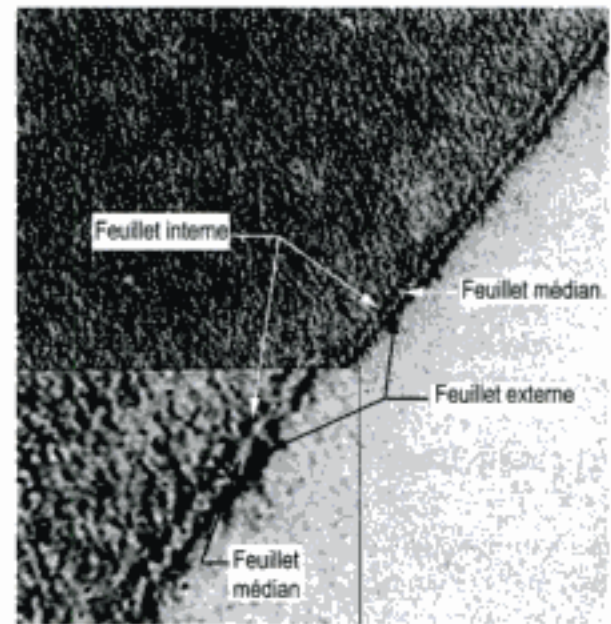


Fig. 3.1

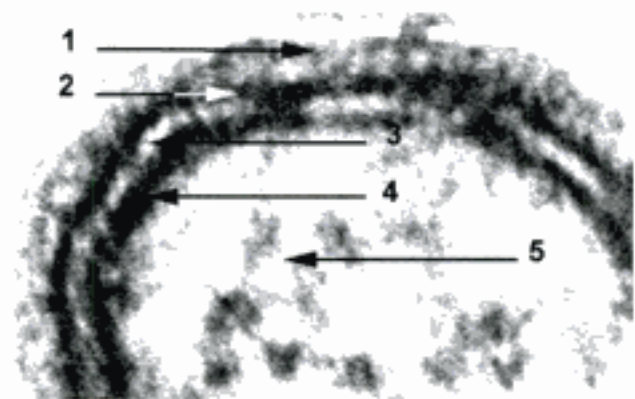
 Membrane plasmique d'un érythrocyte ($\times 200\,000$ et $\times 400\,000$).


Fig. 3.2

Le cell coat.

1. Cell coat. 2. Feuillet osmophile externe de la membrane plasmique. 3. Feuillet osmophobe médian. 4. Feuillet osmophile interne de la membrane plasmique. 5. Cytoplasme.

La structure en triple feuillet ou tripartite s'observe également au niveau des organites. Elle limite les organites cellulaires et les diverses vacuoles, à l'exception du centre cellulaire, du corpuscule basal et des enclaves (lipides, glycogène) : elle est dépourvue de cell coat. Cette similitude n'est que morphologique : les cytomembranes diffèrent par la nature des protéines et des lipides et évidemment par leurs fonctions.

B. Cryodécapage ou *freezing-etching*

Les techniques de cryodécapage démontrent que de la majorité des protéines membranaires sont situées dans l'épaisseur de la membrane (fig. 3.3).

C. Le concept actuel : modèle de Singer et Nicholson

L'étude de l'organisation moléculaire (fig. 3.4) de la membrane plasmique, par les techniques de cryofracture (*freezing-etching*) associée aux

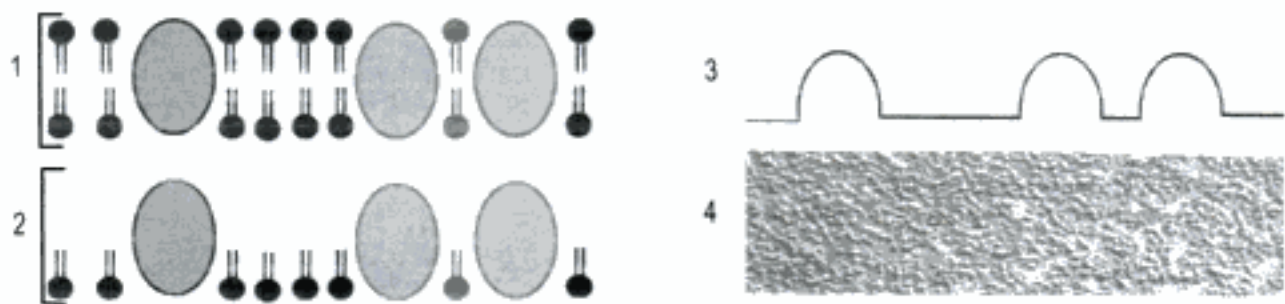


Fig. 3.3

Cryodécoupage de la membrane plasmique.

1. Membrane plasmique. 2. Membrane plasmique après cryodécoupage. 3. Réplique de la face restante après cryodécoupage. 4. Aspect en microscopie électronique de la réplique.

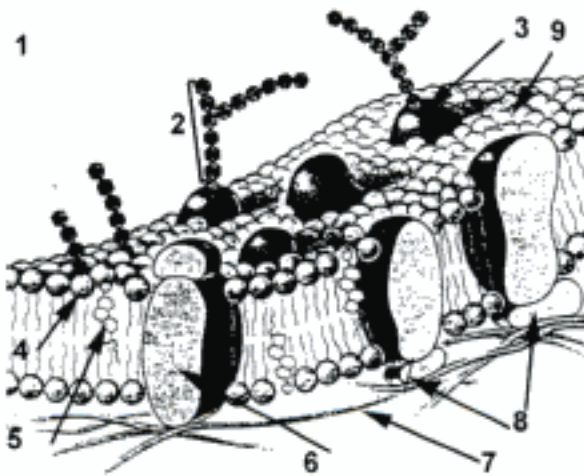


Fig. 3.4

Structure de la membrane plasmique

1. Milieu extracellulaire. 2. Chaîne oligosaccharidique. 3. Glycoprotéine. 4. Glycolipide. 5. Cholestérol. 6. Protéine intrinsèque. 7. Filaments du cytosquelette. 8. Protéine périphérique intracellulaire. Les protéines périphériques extracellulaires ne sont pas représentées. 9. Acides gras.

études en MET et à l'analyse biochimique, montre que la membrane plasmique est un assemblage de molécules protéiques (souvent glycosylées) et de molécules lipidiques organisées en un double feuillet de lipides ; les molécules lipidiques se disposent en une double couche :

- des protéines membranaires intrinsèques ou protéines transmembranaires ;
- des protéines membranaires extrinsèques ou protéines périphériques extra et intracellulaires ;
- des glucides membranaires qui constituent la fraction glycosylée des glycoprotéines et des glycolipides membranaires formant le *cell coat*.

Les membranes qui limitent le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les endosomes, les vacuoles d'endocytose, les lysosomes, les peroxysomes, les grains de sécrétion et la membrane externe de la mitochondrie, bref toutes les membranes cellulaires, ont la même organisation moléculaire à l'exception du *cell coat*.

II. Composition biochimique de la membrane plasmique

A. Techniques d'étude

Afin de pouvoir étudier la composition des membranes plasmiques, il est nécessaire d'en recueillir, à l'état pur, une quantité suffisante.

Après broyage des cellules, les membranes plasmiques sont isolées par ultracentrifugation. Cette technique permet d'obtenir des culots de membrane plasmique, mais ils sont toujours plus ou moins contaminés si les cellules centrifugées contiennent d'autres cytomembranes (appareil de Golgi, réticulum endoplasmique, etc.).

Les hématies (globules rouges ou érythrocytes) des vertébrés sont un matériel de choix puisqu'elles ne contiennent pas d'organites ni de noyaux (contrairement aux hématies des batraciens).

Les hématies sont placées dans un milieu fortement hypotonique : elles se distendent, deviennent sphériques : elles ont tendance à se rompre en un seul endroit. Elles se vident de leur contenu et donnent naissance à des *ghosts* (fantômes) qui possèdent une seule perforation (fig. 3.5). Il se forme également de petites vésicules : elles sont produites par la rupture mécanique du *ghost* qui rapidement se réorganise en une structure fermée, une sorte de vésicule. La face externe est tournée soit vers l'extérieur, soit vers l'intérieur : cela dépend des conditions ioniques au moment de la rupture et de la constitution de la structure fermée.

La suspension de *ghosts*, mélangée au cytoplasme expulsé par hydrolyse, est soumise à une ultracentrifugation : le culot de centrifugation ne contient pratiquement que des membranes plasmiques qu'il sera relativement facile d'analyser.

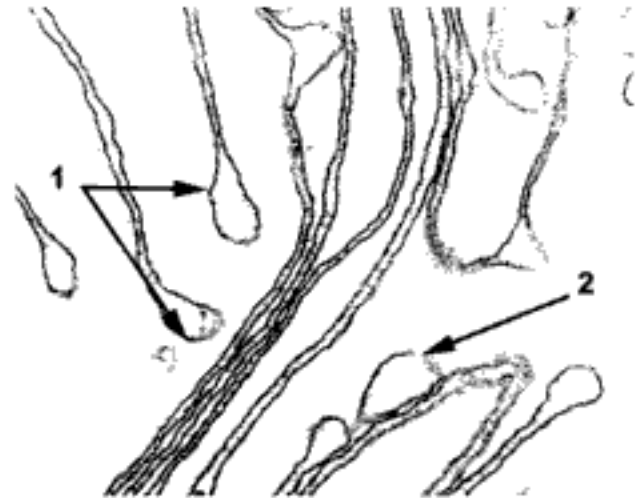


Fig. 3.5

Ghosts.

1. Membrane érythrocytaire.
2. Zone de rupture de la membrane plasmique.

Les pores d'hémolyse

Dans un milieu faiblement hypotonique, les hématies tentent de maintenir un équilibre entre la concentration ionique du milieu extracellulaire et celle du milieu intracellulaire. L'eau pénètre néanmoins dans l'hématie qui se distend, se gonfle, devient sphérique, et subit l'hémolyse. L'hématie se vide en fabriquant des pores membranaires, dénommés pores d'hémolyse (qui apparaissent 20 ms après le dépôt des hématies).

■ La composition de la membrane plasmique dépend de la fonction de la cellule : ainsi, la gaine de myéline des axones contient 20 % de protéines et 80 % de lipides. La membrane des organites contient plus de protéines, environ 70 % et moins de lipides (environ 30 %).

B. Pourcentage relatif des divers constituants

La membrane plasmique des hématies humaines contient 52 % de protéines, 40 % de lipides et 8 % de glucides. Les glucides ne sont jamais libres : ils sont toujours associés, sous la forme de résidus, à des lipides (glycolipides) ou à des protéines (glycoprotéines ou protéoglycanes).

III. Les lipides membranaires

A. Pourcentage relatif

Les 40 % de lipides comprennent 55 % de *phospholipides* (PL), 25 % de *cholestérol*, 20 % de *glycolipides*. Les solvants organiques extraient 50 % des lipides membranaires : 50 % résistent à l'extraction et restent liés aux protéines.

B. Propriétés communes

Tous les lipides membranaires sont *amphiphiles* : ils possèdent une région polaire hydrophile (contenant les groupements carboxyles COOH ayant une forte affinité pour l'eau) et une région hydrophobe apolaire qui n'établit pas de relation avec l'eau. Cette *amphipolarité* des lipides leur confère des possibilités d'auto-organisation en milieu aqueux. Ils forment spontanément des micelles ou des liposomes. Les *micelles* sont des sphères creuses limitées par une couche de lipides dont les groupements polaires restent en contact avec l'eau et dont les queues se dirigent vers le centre (fig. 3.6).

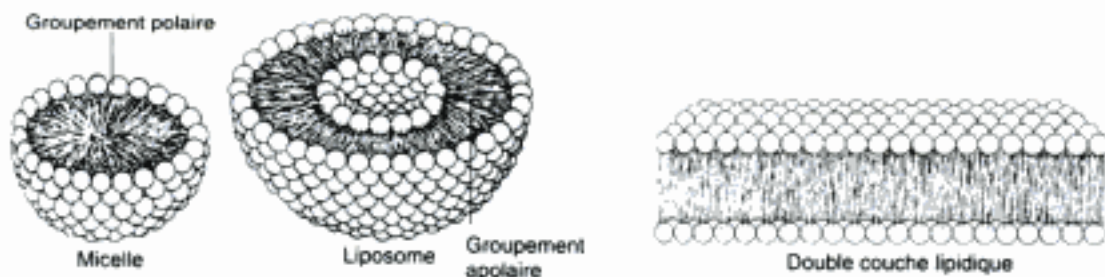


Fig. 3.6

L'auto-organisation des lipides en milieu aqueux.

Sections transversales de trois types de structures que peuvent former les phospholipides en solution aqueuse.

Les *liposomes* sont des sphères creuses limitées par une double couche lipidique : les groupements polaires sont tournés vers l'extérieur et l'intérieur de la sphère et les queues occupent la partie centrale de la double couche.

C. Acides gras (AG)

1. Structure des acides gras

Les acides gras sont constitués par une chaîne carbonée (chaîne aliphatique), hydrophobe, plus ou moins longue, dont la formule générale est $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ où n est pair lorsque la chaîne carbonée est saturée. Les nombreux acides gras qui entrent dans la constitution de la

membrane plasmique diffèrent par la longueur de leur chaîne hydrocarbonée, le nombre et la position des doubles liaisons carbone-carbone. La principale fonction des acides gras est de servir de matériau de construction aux membranes cellulaires.

Les chaînes d'AG contiennent un nombre pair d'atomes de carbone, habituellement entre 14 et 24. Les AG peuvent être saturés ou insaturés. Les AG saturés ne possèdent pas de double liaison : ils sont solides à la température ambiante. Les plus fréquents sont l'acide myristique (14 carbones), palmitique (16 C), stéarique (18 C). Les AG insaturés possèdent une double liaison (AG monoinsaturés) ou plusieurs doubles liaisons (AG polyinsaturés) : les plus fréquents sont les acides oléique (18 C- $\Delta 9$), palmitoléique (16 C- $\Delta 9$), linoléique (18 C- $\Delta 9$, $\Delta 12$), linoléique (18 C- $\Delta 9$, $\Delta 12$, $\Delta 15$) et arachidonique (20 C- $\Delta 5$, $\Delta 8$, $\Delta 11$, $\Delta 14$).

■ Numérotation des carbones

■ Δ indique la présence d'une double liaison, l'exposant désigne le numéro du carbone en partant du carbonyle terminal. Le carbone du méthyle terminal est désigné par ω : les positions des carbones portant les doubles liaisons peuvent être désignées à partir du carbone ω qui devient alors le carbone 1.

2. Forme de la chaîne aliphatique saturée ou insaturée

La chaîne n'est jamais ramifiée chez les animaux. Sa longueur et son degré d'insaturation agissent sur la fluidité de la membrane : un AG ayant une chaîne insaturée possède un point de fusion plus faible que celui qui porte une chaîne saturée de même longueur ; la membrane plasmique contient plutôt des AG saturés, les membranes cytoplasmiques des AG insaturés. Une double liaison donne une angulation à la chaîne hydrocarbonée. La configuration des doubles liaisons est presque toujours *cis*. Comme les acides gras sont ionisés au pH physiologique, il faut les écrire sous leur forme carbonate : myristate, oléate, palmitate, etc.

3. Fonctions

Les AG ne sont jamais libres lorsqu'ils entrent dans la constitution des membranes biologiques. La principale fonction des AG (en dehors de celle de constituer des réserves énergétiques) dans la cellule est la construction des membranes cellulaires. Ils entrent dans la constitution des phospholipides et des glycolipides.

D. Phospholipides

1. Origine

Ils dérivent soit du *glycérol* (alcool à trois carbones), soit de la *sphingosine*. Les cellules synthétisent un peu plus d'une centaine de glycérophospholipides différant par leurs acides gras.

2. Phosphoglycérides (glycérophospholipides)

Ils représentent la *première classe majeure des lipides* de la bicouche de la MP. Les glycérophospholipides possèdent une tête polaire hydrophile constituée par un alcool, un phosphate, le glycérol et deux chaînes hydrocarbonées hydrophobes (fig. 3.7).

Le glycérol possède trois carbones C1, C2, C3 : les deux longues chaînes d'acides gras (AG) sont liées par estérification à C1 et à C2 et l'acide phosphorique est estérifié au niveau de C3. Ce phosphate en C3 est lié à un alcool azoté (par exemple la choline).

Tous les phospholipides dérivent de l'acide phosphatidique [AP] (dépourvue de tête polaire) par liaison avec la choline, l'éthanolamine,

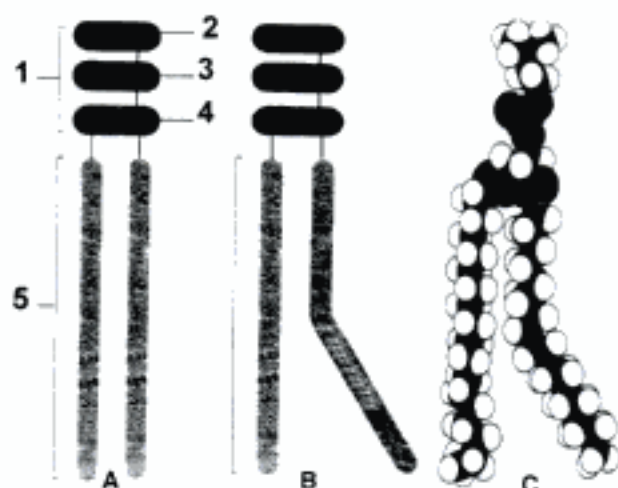


Fig. 3.7

Phospholipide.

1. Groupement polaire (hydrophile). 2. Choline. 3. Phosphate.
4. Glycérol. 5. Chaîne aliphatique (groupement apolaire).

A. Chaîne aliphatique saturée.

B. Chaîne aliphatique insaturée.

C. Représentation symbolique.

l'inositol ou la sérine, etc. Les principaux phospholipides membranaires sont la *phosphatidylcholine* [PC], la *phosphatidyléthanolamine* [PE], le *phosphatidylglycérol* [PG], le *phosphatidylinositol* [PI], la *phosphatidylsérine* [PS].

Les charges électriques

PG, PI, PS portent des charges électriques positives et négatives dont la somme leur confère une charge globale négative. PI peut être modifié par l'estérification des fonctions hydroxyle de l'inositol par plusieurs phosphates (jusqu'à 4) : ces polyphospho-inositides sont porteurs d'un grand nombre de charges négatives.

La distribution des phospholipides

La répartition inégale de PC, PE, PG, PI, PS entre les deux couches lipidiques est responsable de l'asymétrie de la double couche lipidique (voir plus loin).

La phosphatidylsérine

Son passage du feuillet interne au feuillet externe caractérise les cellules apoptotiques : c'est l'un des déterminants de leur identification et de leur suppression.

Les phospholipides

Ils peuvent se comporter comme des transducteurs dans la réponse à un signal extracellulaire.

3. Sphingolipides

Ils forment une catégorie de lipides membranaires moins fréquente. Le squelette des sphingolipides n'est plus le glycérol, mais un *aminoalcool* : le plus fréquent est la *sphingosine*. Les sphingolipides comprennent les *céramides* qui sont formés d'une sphingosine unie à un acide gras par son groupement amine. Les différentes sphingosines ont des groupements supplémentaires estérifiés à l'alcool terminal de la fraction sphingosine. La *sphingomyéline* est une sphingosine dont l'alcool terminal est estérifié par une phosphorylcholine. C'est un *glycolipide* en cas de substitution par un glucide. Les sphingolipides représentent la plupart des lipides qui contiennent des glucides (glycosphingolipides : voir « Les glycolipides »).

E. Cholestérol

Cette molécule lipidique appartient à la famille des stérols : elle ne peut pas former de membranes à elle seule. Le cholestérol possède une fonction hydroxyle et un noyau tétracyclique à 27 atomes de carbone. Il est amphiphile, très hydrophobe à l'exception du groupement OH qui est hydrophile. Sa partie cyclique est rigide (fig. 3.8).

Ce précurseur des hormones stéroïdes est, chez les animaux, pratiquement le seul stérol à entrer dans la constitution de la membrane plasmique.

Il est absent chez les végétaux supérieurs et chez la plupart des bactéries dont la membrane plasmique contient d'autres stérols.

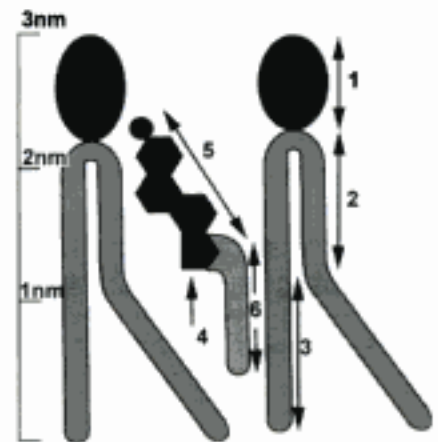


Fig. 3.8

Localisation de la molécule de cholestérol.

1. Groupements polaires de tête des phospholipides. 2. Partie rigidifiée par le cholestérol. 3. Région plus fluide. 4. Molécule de cholestérol. 5. Noyau stéroïde du cholestérol (rigide). 6. Queue apolaire hydrocarbonée (non rigide).

Le cholestérol est apporté à l'organisme par l'alimentation : il est aussi synthétisé par les cellules hépatiques à partir d'isoprène (cinq carbones) qui donne naissance à des dérivés poly-isopréniques à 10 carbones (géranyles), à 15 carbones (farnésyles) et à 20 carbones (géranylgéranyles).

Il s'insère dans la bicouche des phospholipides : la fonction hydroxyle est disposée au voisinage des groupes polaires des phospholipides, elle s'unit par liaison hydrogène à un atome d'oxygène du carbonyle d'une tête phospholipidique. Le noyau tétracyclique sépare les chaînes aliphatiques du carbone 1 au carbone 10, et laisse libre la partie de la chaîne située après le carbone 10.

La teneur en cholestérol de la membrane varie en fonction de l'état physiologique de l'organisme : elle peut atteindre le quart de la totalité des lipides membranaires.

■ Les dérivés poly-isopréniques servent d'ancre lipidique à de nombreuses protéines associées aux membranes.

F. Glycolipides

Les glycolipides sont pourvus d'un résidu de sucre ou d'un oligosaccharide attaché sur le groupement polaire de tête. Ils sont particulièrement abondants dans les cellules nerveuses.

1. Glycosphingolipides

Ces lipides sont prédominants. Ce sont des dérivés de la sphingosine. Ces lipides sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs oses liés au C1 d'un *céramide*. Ils ne contiennent pas de phosphate. Ils possèdent un sucre attaché par une liaison β -glucosidique avec un groupe OH (situé en

C1) d'une sphingosine liée à un céramide. Certains sont neutres tandis que d'autres portent des charges négatives.

En fonction du nombre d'oses contenus, on distingue les cérébrosides et les gangliosides :

- les *cérébrosides* (glucocérébrosides et galactocérébrosides) contiennent un seul ose (respectivement glucose et galactose), non chargé, lié au groupe hydroxyle terminal du céramide ;
- les *gangliosides* sont des glycolipides complexes : ils contiennent des groupes de tête formés par un ou plusieurs résidus d'acide N-acétyl-neuraminique ou acide sialique (NANA), disposés en une chaîne ramifiée liée au céramide par un résidu glucose. Les gangliosides représentent environ 5 à 8 % des lipides cérébraux. Une vingtaine de types ont été identifiés.

2. Dérivés glucidiques du glycérol

Ils comportent des chaînes osidiques liées à la fonction hydroxyle du C3 des diglycérides.

3. Glycosylphosphatidylinositols (GPI)

Ces molécules sont formées par une liaison glucosamine-inositol entre une chaîne glycanes et l'hydroxyle en 4' d'un phosphatidyl-inositol.

Les GPI de la membrane plasmique permettent l'ancrage des glycoprotéines au feuillet externe et *uniquement au feuillet externe*. Les GPI confèrent à cette protéine une mobilité rapide à la surface de la double couche lipidique. Les ancres de GPI sont, par exemple, utilisées au niveau de la membrane plasmique pour diriger les protéines de la membrane plasmique dans les radeaux lipidiques (*lipid rafts*) et pour séparer ces protéines et d'autres protéines membranaires.

Chez les *mammifères*, les glycolipides assument une partie de l'antigénicité de surface : les antigènes A, B, H, Lewis dépendent de nombreux glycolipides et gangliosides. Ils jouent également un rôle de récepteurs. Les récepteurs membranaires sont généralement de nature protéique. Les glycolipides peuvent fixer des toxines microbiennes. Le ganglioside monosialylé (GM1) est le récepteur de la toxine cholérique.

G. Propriétés de la double couche lipidique

1. Fluidité de la double couche lipidique

Les membranes ne sont pas rigides, car les constituants lipidiques d'une membrane sont associés par des attractions hydrophobes, plus faibles que les liaisons covalentes. La maintenance de la fluidité est indispensable au bon fonctionnement de la membrane : elle dépend du cholestérol, de l'état des phospholipides (insaturation, longueur de la chaîne aliphatique, de la température).

a. Rôle du cholestérol

Chez les *eucaryotes*, le cholestérol est un régulateur clé de la fluidité membranaire : dans leur membrane plasmique, il existe une molécule de cholestérol pour une molécule de phospholipide. D'éventuelles variations

de ces proportions modifient la fluidité de la membrane. Le cholestérol renforce la solidité de la membrane. Certaines lignées cellulaires cultivées ne synthétisent pas de cholestérol : les cellules possèdent alors une membrane très fragile. Elles subissent rapidement une lyse. L'ajout, dans le milieu de culture, de molécules de cholestérol inhibe cette cytolyse. Il a un effet tampon : il fluidifie les membranes trop rigides ou rigidifie les membranes trop fluides. Le noyau stérol rigide (fig. 3.8) stabilise les bicouches fluides dans la région située entre le carbone 1 et le carbone 10 des chaînes aliphatiques des AG. En revanche, à partir du carbone 10, il favorise le mouvement de la région des chaînes aliphatiques situées en profondeur de chacune des couches de la bicouche. Le cholestérol agit en empêchant le rapprochement et la cristallisation des chaînes des acides gras en s'insérant entre elles. Une augmentation de la concentration en cholestérol dans la bicouche abolit les transitions de phase (voir « Température », *infra*).

Transition de phase

Certains phosphatides chauffés passent successivement de l'état solide à l'état de gel, puis à l'état de cristal liquide et enfin à l'état liquide. Le passage d'un état à un autre porte le nom de transition de phase. La température à laquelle se produit cette transition est désignée par les termes de « température de transition ».

b. Insaturation des phospholipides

L'insaturation (augmentation du nombre de doubles liaisons) et/ou le raccourcissement des chaînes hydrocarbonées augmente(nt) la fluidité de la double couche lipidique. La saturation des chaînes hydrocarbonées ou l'allongement des chaînes la rend visqueuse (fig. 3.9). Des bactéries en culture en basse température synthétisent plus d'acides gras insaturés que lorsqu'elles sont cultivées à 37 °C.

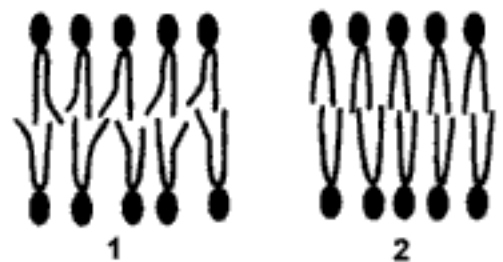


Fig. 3.9

Fluidité de la double couche lipidique.

1. État fluide, les chaînes aliphatiques sont insaturées.
2. État visqueux, les chaînes aliphatiques sont saturées.

c. Longueur des chaînes aliphatiques

La fluidité de la membrane est augmentée par le raccourcissement des chaînes aliphatiques. Les chaînes aliphatiques des AG de la membrane des organites sont plus courtes que celles de la membrane plasmique. C'est une des raisons pour lesquelles elles sont plus fluides. Elles contiennent aussi moins de cholestérol.

d. Température

- Une baisse de la température ralentit l'agitation moléculaire. Mais une baisse de la température provoque la synthèse de lipides membranaires insaturés et agit sur le cholestérol. Ces lipides insaturés maintiennent

l'écartement des molécules et empêchent la formation de liaisons faibles ; le cholestérol protège la membrane plasmique de cet abaissement de température et maintient la fluidité membranaire en interférant par ces interactions avec les chaînes d'acides gras.

- Une *hausse de température* augmente l'agitation moléculaire. Le cholestérol rend la partie externe de la membrane moins fluide en interagissant avec les mouvements des chaînes d'acides gras phospholipidiques. Si les mécanismes régulateurs sont dépassés par une baisse de température, le mouvement des molécules est fortement limité et la bicouche entière peut être assimilée à un gel cristallin.
- La cellule s'adapte aux variations de la température en renouvelant ses membranes tout en modifiant leur composition lipidique. Ce mécanisme est lent et ne peut contrebalancer une variation rapide de la température.

2. Fluidité et mouvements des lipides dans la bicouche

Les lipides se déplacent dans la double couche lipidique. Les déplacements de la plupart des molécules lipidiques dans une couche lipidique sont indépendants de ceux qui se produisent dans l'autre monocouche (fig. 3.10).

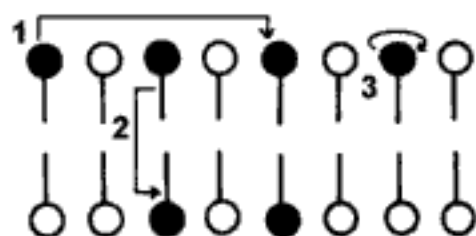


Fig. 3.10

Mouvement des molécules lipidiques dans la membrane plasmique.

1. Mouvement de diffusion latérale. 2. Mouvement de flip-flop.

3. Mouvement de rotation.

a. Diffusion latérale

Les mouvements de déplacement latéraux sont rapides ($1 \mu\text{m/s}$ à 37°C , soit environ 10^{-8} cm/s). Les lipides changent de place avec leurs voisins 10^7 fois par seconde.

b. Mouvements de rotation

Les lipides tournent fréquemment sur eux-mêmes autour de leur axe longitudinal.

c. Mouvements de bascule ou flip-flop

► Caractères du flip-flop

Les lipides peuvent passer d'une bicouche à l'autre par un mouvement de bascule (flip-flop). Ce mouvement est lent : le groupement hydrophile du lipide doit traverser la couche hydrophobe interne de la membrane. Un tel mouvement de bascule est donc thermodynamiquement défavorisé.

► Transporteurs des phospholipides

Ils assurent le maintien de l'asymétrie. La *floppase* (ATP et calcium-dépendante) permet un flip-flop lent de la phosphatidylsérine et de la phosphatidyléthanolamine du feuillet cytosolique vers le feuillet externe de la

membrane plasmique tandis que la *flippase* ou aminoPL translocase (ATP et calcium-dépendante) assure leur transport en sens inverse. La *scramblase* permet le transport bidirectionnel et aspécifique des PL entre les deux feuillets de la membrane. Ce transport nécessite une concentration élevée de calcium mais pas d'ATP.

3. Fluidité et perméabilité de la membrane plasmique

Les molécules traversent facilement la membrane lorsqu'elle est dans un état fluide (indépendamment du mécanisme qui assure leur passage) : sinon, les molécules ne franchissent pas la membrane. Un environnement trop rigide peut inhiber les changements conformationnels des molécules intervenant dans le transport transmembranaire.

4. Imperméabilité de la bicouche lipidique

Les membranes en double couche lipidique ont une très faible perméabilité aux ions et à la plupart des molécules polaires. L'eau traverse aisément, tandis que le Na^+ et le K^+ traversent 10 fois plus lentement que l'eau. Les coefficients de perméabilité des petites molécules sont corrélés à leur solubilité dans un solvant non polaire par rapport à leur solubilité dans l'eau (voir chapitre 4).

5. Organisation asymétrique des lipides dans le plan transversal

La répartition des lipides entre les deux feuillets est très asymétrique. Les *sphingolipides*, les *phosphatidylcholines* sont plus abondants dans le feuillet externe de la bicouche, les *phosphatidyléthanolamines*, les *phosphatidylsérines* dans le feuillet interne. Cette asymétrie est fonctionnellement importante (fig. 3.11).

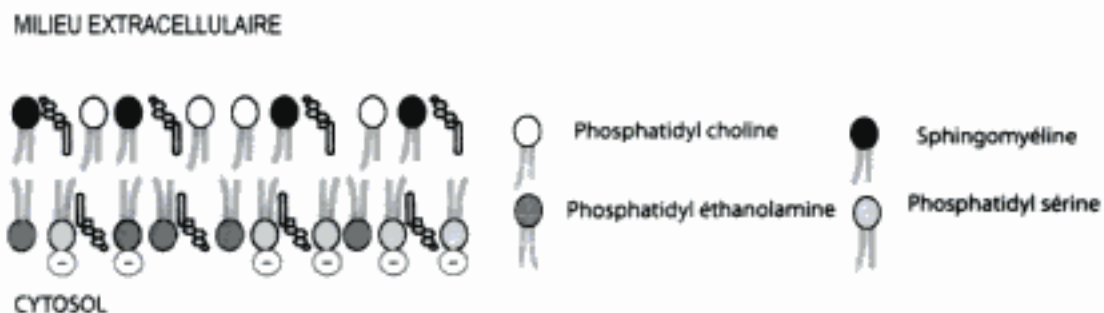


Fig. 3.11

Répartition asymétrique des lipides dans la membrane plasmique.

Les phosphatidylcholines et les sphingomyélines sont disposées dans le feuillet externe, les phosphatidyléthanolamines et phosphatidylsérines dans le feuillet interne.

L'asymétrie de répartition des PS entraîne une augmentation des charges électriques négatives sur la surface interne de la membrane plasmique et donc une augmentation du potentiel de membrane.

Rôle de la modification de l'asymétrie de répartition des lipides

Coagulation sanguine : par exemple, dans les plaquettes, l'externalisation de la PS (passage dans le feuillet externe) déclenche le processus de coagulation sanguine.

Phagocytose : la PS exposée est également un déterminant de l'élimination par phagocytose des cellules apoptotiques ou sénescents. Lors de la perte de cette asymétrie, la surcharge transitoire en PL dans le feuillet externe aboutit à la formation de bourgeons, suivie par l'émission de microparticules. Celles-ci sont porteuses de PS, d'antigènes fonctionnels et/ou de molécules d'adhérence de la cellule d'origine, qui déclenchent la phagocytose par les macrophages.

6. Organisation des lipides dans le plan latéral

Cette organisation résulte d'un regroupement dynamique préférentiel des lipides dans des plates-formes mobiles, les microdomaines lipidiques désignés par les termes *DIG* (*Detergent Insoluble Glycolipid enriched domain*) ou *rafts* (radeaux) capables d'inclure ou d'exclure certaines protéines (fig. 3.12).

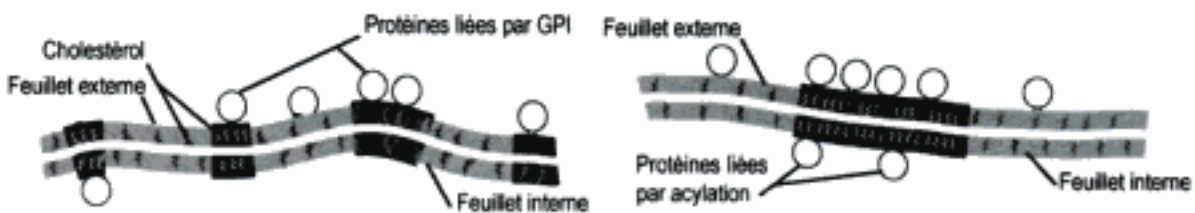


Fig. 3.12

Organisation schématique des radeaux.

a. Définition

Les microdomaines lipidiques sont des séparations transitoires de phase de la bicouche lipidique fluide, des sortes de plaques de la bicouche lipidique particulièrement riches en cholestérol, glycosphingolipides et en protéines membranaires ancrées sur leur face externe au GPI et en protéines membranaires liées par acylation sur leur face interne.

b. Structure

Des îlots de *sphingolipides* et de *cholestérol* peuvent s'individualiser pour former des phases distinctes disposées d'une manière aléatoire au sein des membranes plasmiques. Ils sont désignés par le sigle DIG ou radeaux lipidiques (*lipid rafts*).

Ces microdomaines ont un diamètre moyen de 40 nm et leur surface totale couvre 35 % de la cellule. Ils sont plus épais que les autres parties de la bicouche : les *chaînes aliphatiques* des AG qui les composent sont plus longues et plus rectilignes que les chaînes d'acides gras de la plupart des lipides membranaires. Cette augmentation d'épaisseur leur permet d'accumuler certaines protéines.

Les *sphingolipides* sont surtout localisés dans le feuillet externe de la bicouche : les chaînes hydrocarbonées des sphingolipides d'une couche interagissent avec celles de l'autre monocouche. Les deux monocouches communiquent ainsi dans le radeau lipidique par leurs queues lipidiques. Les lipides ne peuvent se déplacer indépendamment les uns des autres.

Ces radeaux lipidiques sont enrichis en *protéines*. Des protéines extracellulaires sont ancrées par des molécules de GPI : des molécules de la face cytosolique sont ancrées par des acides gras (comme la Src tyrosine kinase).

La face cytosolique de ces rafts est revêtue par une protéine, la *cavéoline* dont les extrémités N- et C-terminales plongent dans le cytosol. L'*annexine II* relie le *cytosquelette cortical* à la face cytosolique des DIG, jouant ainsi un rôle de stabilisateur.

Pour un certain nombre d'auteurs, la cavéoline n'existerait qu'au niveau des cavéoles (voir chapitre 15, « L'endocytose », p. 413) qui sont constituées par une invagination de la membrane plasmique constituée par un raft.

c. Rôle des microdomaines

Les DIG servent de plates-formes pour la fixation de protéines membranaires.

Ces protéines comprennent les protéines ancrées par GPI (glycosylphosphatidylinositol), les enzymes digestives apicales des entérocytes, l'hémagglutinine, la sous-unité γ des protéines G hétérotrimériques (et éventuellement la neuraminidase du virus de la grippe). Les DIG interviennent dans l'expression des gènes, dans l'activation de certaines enzymes (protéine kinase C) ainsi que dans la biogenèse de la membrane et dans la division cellulaire.

H. Synthèse des lipides membranaires

Les phospholipides et des phosphatidylcholines sont synthétisés dans le cytosol au voisinage du réticulum endoplasmique lisse.

Une molécule de glycérophosphate fusionne avec deux molécules d'acides gras liées chacune à un coenzyme A. Cette molécule néoformée est incorporée dans la face cytosolique de la membrane du réticulum. Elle est transformée en diacylglycérol par une phosphatase contenue dans la membrane du réticulum. Le diacylglycérol se combine avec une molécule de phosphocholine grâce à une phosphocholine transférase présente dans la membrane du REL. Les phosphatidyléthanolamines, phosphatidylsérines et phosphatidylinositols sont synthétisés suivant un mécanisme identique. La future disposition des lipides dans la membrane plasmique est réalisée dans la membrane du REL.

L'asymétrie membranaire est générée par des translocases à phosphatidylcholines. Ces enzymes transfèrent les lipides vers la face luminale du réticulum à l'exception de la phosphatidyléthanolamine et de la phosphatidylsérine.

Les gangliosides et les sphingolipides, synthétisés sous la forme de précurseurs sur les membranes du REL, subissent une ultime modification dans les membranes de l'appareil de Golgi.

IV. Les protéines membranaires

A. Définition

Le terme de protéines membranaires englobe la totalité des protéines qui entrent dans la constitution de la membrane plasmique, aussi bien les protéines transmembranaires (intrinsèques ou intégrales) que les protéines périphériques (extrinsèques externes ou internes). Elles assurent la plupart des fonctions de la membrane plasmique. Elles confèrent,

à chacun des types cellulaires, des propriétés fonctionnelles caractéristiques, ce qui implique que la quantité et la nature de ces protéines sont extrêmement variables.

B. Pourcentage relatif

Une cellule ne fonctionne que si elle interagit avec son environnement : il lui faut donc un grand nombre de protéines membranaires différentes. On estime qu'environ 30 % des protéines codées par le génome d'une cellule animale sont des protéines membranaires.

Les protéines membranaires sont 30 à 50 fois plus volumineuses que les lipides. Elles sont moins nombreuses que les lipides (100 lipides pour 1 protéine).

Les protéines modifient la tension superficielle de la bicouche lipidique. La tension superficielle membrane plasmique est de 0,2 à 3 dynes/cm² : en l'absence de protéines, elle serait de 15 dynes/cm².

Le PM (poids moléculaire) des protéines est compris en général entre 20 et 215 kDa. Les protéines représentent 50 % de la masse de la membrane.

C. Protéines intramembranaires

1. Définition

Les protéines intramembranaires (intégrales ou intrinsèques) sont des protéines solidement maintenues dans la membrane plasmique : elles ne peuvent en être extraites que par des traitements qui rompent la bicouche lipidique (traitements drastiques par des détergents, des sels biliaires ou des solvants organiques). Elles occupent la totalité ou une partie de l'épaisseur de la membrane.

2. Propriétés

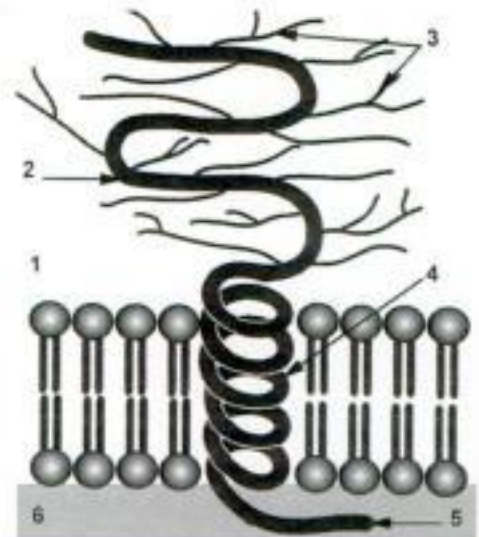
Les protéines transmembranaires sont *amphipathiques*. Elles possèdent des régions hydrophobes et des régions hydrophiles. Les régions hydrophobes sont intramembranaires. Le segment transmembranaire est habituellement composé d'acides aminés non polaires qui prennent une conformation en *hélice alpha*. Les *interactions* de ce segment transmembranaire sont *ioniques* avec les têtes polaires des lipides et *hydrophobes* avec les chaînes aliphatiques hydrophobes des molécules lipidiques. Les régions hydrophiles sont exposées à l'eau sur les versants cytosolique et extracellulaire de la membrane plasmique.

3. Protéines à traversée unique (*single pass* ou bitopique)

La protéine ne traverse la bicouche lipidique qu'une seule fois. Elle possède deux pôles hydrophiles, en contact l'un avec la phase aqueuse extracellulaire, l'autre avec la phase aqueuse cytoplasmique, et une partie moyenne en hélice α , hydrophobe, plongée dans la couche lipidique (fig. 3.13).

La glycophorine A, dont la fonction est mal connue, est la principale protéine de la membrane plasmique des érythrocytes et elle est spécifique de ces cellules. C'est une petite protéine intrinsèque possédant une seule hélice α hydrophobe transmembranaire (voir « Éléments intrinsèques et extrinsèques du *cell coat* », p. 73).

■ Les hélices transmembranaires ne sont pas toujours hydrophobes. Des protéines membranaires intrinsèques possèdent un canal aqueux : il permet le passage des ions ou des solutés polaires à travers la bicouche. Dans ce cas, des hélices amphipathiques constituent la paroi des canaux aqueux : la face dirigée vers la bicouche lipidique est constituée par résidus d'acides aminés non polaires, l'autre face est formée de résidus polaires situés du côté du pore.

**Fig. 3.13**

La glycophorine, une protéine bitopique.

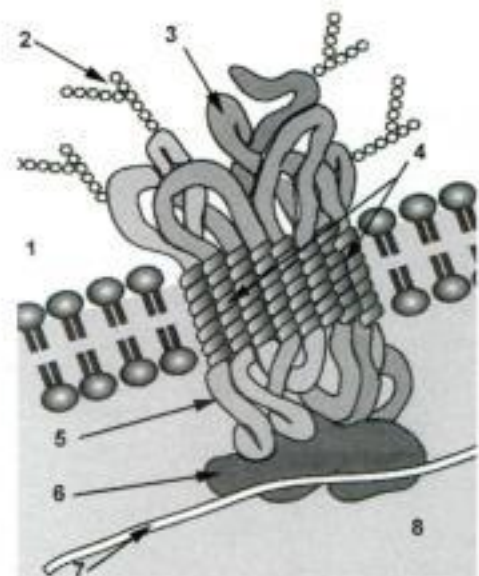
1. Milieu extracellulaire. 2. Domaine extracellulaire. 3. Chaînes oligosaccharidiques.
4. Hélice α transmembranaire. 5. Domaine intracellulaire. 6. Cytosol.

Ces protéines sont généralement des récepteurs de la membrane plasmique ; elles s'unissent à un ligand (facteur de croissance, hormone peptidique ou antigène) situé sur la face extracellulaire : le segment transmembranaire transmet le message à travers la membrane vers le cytoplasme.

4. Protéines à traversées multiples (*multipass* ou *polytopiques*)

Ces protéines à traversées multiples traversent plusieurs fois la double couche lipidique, en constituant à chaque traversée une hélice α régulière (fig. 3.14), constituée par 25 à 30 acides aminés.

La *protéine bande 3*, un canal ionique de 930 acides aminés, traverse 14 fois la double couche lipidique. Elle a été isolée par électrophorèse à partir des membranes plasmiques d'hématies : elle intervient dans le transport de l'oxygène aux tissus et du gaz carbonique vers les poumons.

**Fig. 3.14**

Protéine polytopique, ex. la protéine bande 3.

Redessiné d'après Cooper.

1. Milieu extracellulaire. 2. Chaîne polysaccharidique. 3. Domaine extracellulaire. 4. Hélices α transmembranaires. 5. Domaine intracellulaire. 6. Ankyrine. 7. Spectrine. 8. Cytosol.

Les canaux ioniques, certains récepteurs (récepteur de l'épinéphrine, de la particule de reconnaissance du signal du RE, etc.) appartiennent également à cette classe de protéines.

5. Protéines monotopiques

Ces protéines ne traversent pas la membrane, une seule partie émerge de la bicouche. Elles sont exceptionnelles. Le *cytochrome b5*, une protéine cytoplasmique, serait monotopique. La *mellitine*, une molécule contenue dans le venin d'abeille, s'intercale dans une moitié de la bicouche. La *PGH2 synthétase* (cyclo-oxygénase) pénètre, par des hélices α hydrophobes, dans une partie de la couche lipidique.

6. Mode d'ancrage des protéines intrinsèques

a. Liaisons non covalentes

Pour la majorité des protéines, des liaisons non covalentes les lient aux lipides. Les domaines de liaisons sont riches en acides aminés hydrophobes comme la leucine, la phénylalanine, le tryptophane, la valine, etc. Seuls des solvants organiques des lipides ou des détergents peuvent les extraire. La région intramembranaire de la molécule liée aux lipides s'organise en hélice.

b. Liaisons covalentes

Certaines protéines situées à la surface de la membrane sont fortement associées aux lipides membranaires grâce à une ancre lipidique (GPI, acide gras), qui se lie par une liaison covalente à la séquence d'acides aminés.

7. Distribution des protéines intrinsèques

Les techniques de microscopie électronique par cryofracture permettent de mettre en évidence la répartition généralement hétérogène des protéines intramembranaires. Les protéines apparaissent sous la forme de petites particules. En fonction de leur place dans l'épaisseur de la bicouche lipidique, elles restent liées soit à la face P (du côté du cytosol), soit à la face E (du côté externe).

D. Protéines périphériques

1. Caractères d'identification

Les protéines membranaires périphériques sont hydrophiles et ne pénètrent pas dans l'intérieur hydrophobe de la bicouche lipidique. Elles sont libérées de la membrane par des techniques d'extraction relativement douces. Elles sont reliées soit à la face cytosolique, soit à la face extracellulaire de la membrane par des interactions non covalentes (liaison électrostatique faible), soit aux groupements hydrophiles de tête des lipides, soit aux portions hydrophiles de protéines intrinsèques sortant de la bicouche.

■ *Techniques d'extraction relativement douces : exposition à des solutions de très haute ou de très faible force ionique ou de pH alcalin, qui interfèrent avec les interactions entre protéines mais laissent la bicouche lipidique intacte.*

2. Protéines périphériques ancrées dans la face cytosolique

a. Caractères généraux

La plupart de ces protéines sont associées à un segment hydrophobe permettant leur insertion dans la bicouche lipidique. Il s'agit le plus souvent d'associations covalentes avec un résidu isoprényle (farnésyle ou géranyl-géranyle), un acide gras (myristique ou palmitique).

■ Ces protéines sont considérées comme des protéines intrinsèques (cf. Alberts et coll.).

b. Protéines à ancre myristoylée

La myristoylation est la fixation co ou post-traductionnelle d'une chaîne d'acide gras (l'acide myristique) par une liaison amide à une glycine N-terminale de la protéine. Ce mode d'ancrage de la protéine périphérique est relativement faible.

La tyrosine kinase Src et d'autres protéines de signalisation cellulaire sont ainsi ancrées au versant cytoplasmique de la membrane plasmique. La sous-unité α des protéines G est myristoylée.

c. Protéines à ancre isoprénylée

L'isoprénnylation est la fixation post-traductionnelle d'un dérivé de l'isoprène (un précurseur du cholestérol) à une cystéine située en C-terminal d'une protéine. Une liaison thioester lie le groupement prényle (ou un groupement farnésyle [polymère de 3 isoprènes] ou géranyl-géranyle [polymère de 4 isoprènes]) à une cystéine située à quatre résidus de l'extrémité C-terminale de la protéine. Les trois acides aminés terminaux sont coupés après cette prénnylation : la nouvelle extrémité C-terminale est méthylée puis insérée dans la membrane plasmique. Ce mode d'ancrage est extrêmement solide, pratiquement irréversible.

Les sous-unités stables (γ) des protéines G trimériques sont isoprénylées. La protéine P21 ras est également isoprénylée. Cette protéine est une protéine transformante : sa liaison à la membrane plasmique est indispensable pour qu'une cellule se cancérisse. Elle est liée à la membrane plasmique par un résidu farnésyle.

d. Protéines à ancre palmitoylée

La palmitoylation est la fixation post-traductionnelle d'un acide palmitique par une liaison thioester sur une cystéine N-terminale d'une protéine. Cette palmitoylation nécessite l'activation de l'acide palmitique.

Les protéines myristoylées, palmitoylées ou isoprénylées sont toujours intracellulaires. Les liaisons relativement faibles par myristoylation ou palmitoylation permettent aux protéines ainsi liées de participer facilement à des séquences au cours desquelles elles s'attachent et se détachent de la membrane (ces liaisons sont ATP-dépendantes). Ces protéines périphériques sont impliquées dans des processus de signalisation.

Les protéines ancrées du côté cytosolique comprennent des constituants du cytosquelette, l'actine, la spectrine de la membrane de l'hématie.

■ Dans l'hématie, l'actine et la spectrine s'associent à la membrane via l'ankyrine et la protéine bande 3.

3. Protéines périphériques ancrées sur la face extracellulaire

Ce sont souvent des protéines ancrées au *glycosyl-phosphatidylinositol*. Le GPI est lié par son oligoside à l'extrémité C-terminale des protéines

périphériques extracellulaires : l'ancrage dans la bicouche est réalisé par les deux chaînes acylées. Par exemple, l'*acétylcholinestérase*, une enzyme des synapses cholinergiques qui lyse l'acétylcholine, est ancrée par GPI à la membrane post-synaptique. Il en est de même pour plusieurs enzymes comme la phosphatase alcaline. Si la cellule est traitée par la phospholipase C, une enzyme qui hydrolyse la liaison phosphate-glycérol, la molécule protéique se détache de la membrane plasmique.

E. Mobilité des protéines

1. Techniques d'étude de la diffusion latérale des protéines

a. Fixation d'anticorps fluorescents

Les glycoprotéines de la membrane plasmique, qui possèdent une activité antigénique, sont colorées par fixation d'anticorps marqués par une substance fluorescente.

b. Technique de récupération de la fluorescence après photodécoloration (FRAP : *Fluorescence Recovery After Photobleaching*)

L'application d'un faisceau laser sur la membrane décolore irréversiblement une zone constituée par 100 à 1 000 fluorophores (protéines marquées par une molécule fluorescente). Ce champ membranaire redevient fluorescent grâce à la migration latérale des fluorophores : leur mobilité moyenne dans la membrane est mesurée. La vitesse de récupération de la fluorescence observée avec une lumière moins intense donne des informations sur le coefficient de diffusion latérale et le nombre de molécules capables de se mouvoir pendant la durée de l'expérimentation.

c. Technique SPT (*Single Particle Tracking* : suivi d'une seule particule)

Cette technique permet de suivre le mouvement de l'or colloïdal ou de particules fluorescentes liés spécifiquement à une seule ou plusieurs molécules de la membrane. Ces particules sont suivies, pendant une période déterminée, par microscopie à image digitalisée et fournissent des informations sur l'environnement membranaire local à l'échelon inframicroscopique. Une telle technique permet en plus d'observer les mouvements browniens moléculaires, les mouvements dirigés et les mouvements limités à un compartiment (diffusion limitée ou enfermée). Les particules d'or colloïdal, attachées aux molécules membranaires, permettent non seulement de marquer les protéines, mais aussi de les déplacer en utilisant des rayons laser (pinces laser ou pinces optiques).

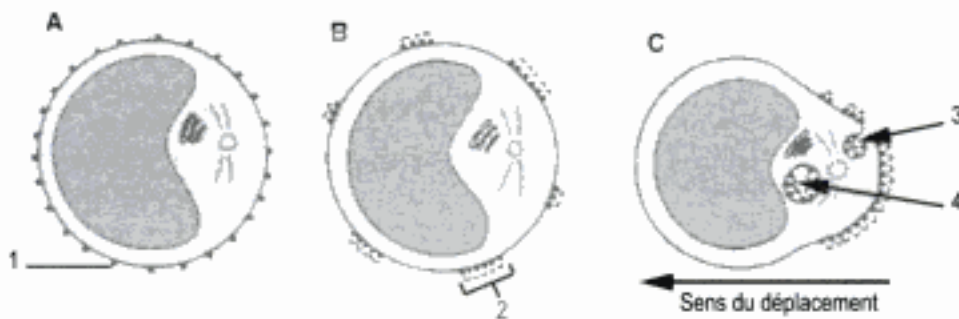
2. Exemple : immunoglobulines des lymphocytes

a. Répartition des immunoglobulines du lymphocyte inactif

Les glycoprotéines de lymphocytes exposés au froid, ou métaboliquement et fonctionnellement inactifs, se répartissent par groupes dispersés à la surface de la membrane.

b. Migration des immunoglobulines du lymphocyte activé

À 37 °C, les lymphocytes deviennent actifs : ils se déplacent (fig. 3.15).

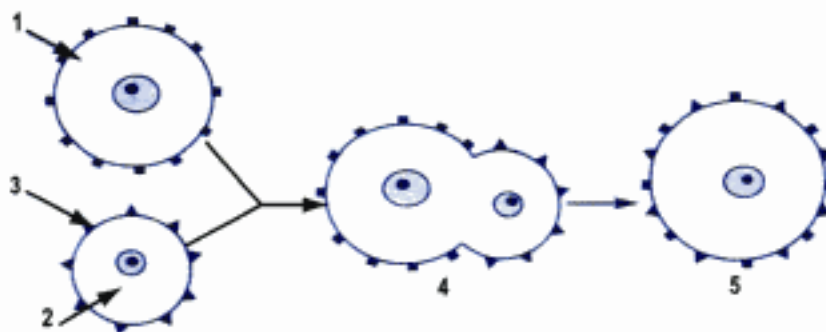

Fig. 3.15
Migration des immunoglobulines.

A. Distribution normale des immunoglobulines (1). **B.** Distribution par zones (2) (cellule exposée au froid). **C.** Formation de la coiffe au cours de la migration qui se fait dans le sens indiqué par la flèche. 3. Endocytose des molécules d'immunoglobuline. 4. Vacuole d'endocytose.

La cellule se déforme : elle possède un pôle antérieur sphérique et un pôle postérieur effilé. Les groupes antigéniques migrent vers le pôle postérieur de la cellule, fusionnent en une seule zone, formant une sorte de coiffe (le *capping*). Les molécules non marquées partent du pôle postérieur et cheminent à contre-courant. Un quart d'heure après la formation de la coiffe, la partie de la membrane plasmique qui contient les protéines marquées s'internalise par endocytose, la substance fluorescente disparaît de la surface cellulaire et se retrouve dans la paroi des vacuoles d'endocytose. La formation de la coiffe dépend du cytosquelette, en particulier des microfilaments d'actine : elle consomme de l'énergie. Elle est ATP-dépendante. Le blocage de la synthèse d'ATP, obtenu en inhibant le fonctionnement des mitochondries par des poisons métaboliques ou par le froid, bloque la diffusion latérale des protéines.

c. Expérience de Frye et Edidin

Des cellules humaines et des cellules de souris, placées dans un même milieu de culture, fusionnent pour constituer des hétérocaryons (fig. 3.16).


Fig. 3.16
Expérience de Frye et Edidin.

1. Cellule humaine. 2. Cellule de souris. 3. Protéines membranaires. 4. Fusion cellulaire. 5. Hétérocaryon (la répartition des protéines humaines ou de souris n'est pas restreinte à leur membrane d'origine).

Une question se pose alors : dans la membrane de l'hétérocaryon Homme-souris, existe-t-il ou non une ségrégation des protéines membranaires issues des deux types cellulaires ? L'emploi d'anticorps fluorescents, verts pour marquer les protéines de souris et rouges pour celles de l'homme, démontre que, dans l'hétérocaryon nouvellement formé, les points fluorescents verts ou rouges se répartissent sur la totalité de la surface cellulaire. Cette expérience prouve que les protéines membranaires peuvent se déplacer latéralement de plusieurs microns.

3. Vitesse de diffusion

Elle est fonction de la viscosité de la bicouche lipidique et de la masse de la protéine. Le coefficient de diffusion, en ne tenant compte que des facteurs physiques, devrait être de 10^{-9} cm/s. En réalité, les vitesses sont inférieures, environ 10^{-11} cm/s. Cette différence implique l'existence d'une limitation de la vitesse de diffusion des protéines. Cette limitation dépend des protéines extrinsèques du versant cytosolique qui sont en rapport avec le cytosquelette cortical et des polysaccharides situés sur le versant extracellulaire de la membrane plasmique.

4. Limitation de la diffusion des protéines

Dans les cellules polarisées, comme les entérocytes, les déplacements latéraux des protéines de la membrane plasmique apicale s'arrêtent au niveau des jonctions serrées (*tight junctions* ou jonctions étanches) qui unissent les pôles apicaux des entérocytes (voir chapitre 8, p. 142). Il en est de même pour les lipides.

F. Glycosylation des protéines membranaires

Chez les eucaryotes, la plupart des protéines membranaires qui entrent dans la constitution de la membrane plasmique sont des *glycoprotéines* (voir plus loin).

G. Fonctions des protéines membranaires

Les molécules protéiques, isolées les unes des autres, baignent dans la double couche lipidique. Elles interviennent, en fonction de leur nature, dans :

- la spécificité et la diversité des membranes : elles varient considérablement d'un type cellulaire à l'autre ;
- le transport transmembranaire des substances nécessaires à la croissance et aux remplacements des structures cellulaires ;
- la réception d'informations : les protéines membranaires sont alors des récepteurs capables de réagir soit à des molécules informatives (par exemple les hormones), soit à des stimuli physicochimiques ; les récepteurs convertissent ces signaux afin que la cellule puisse les interpréter ;
- les mécanismes de reconnaissance cellulaire : certaines d'entre elles possèdent une activité antigénique ; les glycoprotéines sont le support des antigènes M, N et des antigènes d'histocompatibilité ;
- l'inhibition de contact : elle se traduit par une inhibition des mouvements des membranes qui sont en contact l'une avec l'autre, mais aussi par un arrêt de la prolifération ;

- l'adhérence entre cellules ou sur un support conjonctif ou autre ;
- des activités enzymatiques diverses ;
- des liaisons structurales qui unissent le cytosquelette à la membrane plasmique ;
- la fixation de substances médicamenteuses ;
- la fixation de virus, de toxines ou de cellules.

V. Les glucides membranaires ou le *cell coat*

A. Résidus glucidiques

Les glucides sont présents dans les membranes, non pas en tant que tels, mais comme des constituants partiels, des *résidus osidiques* des glycoprotéines et des glycolipides.

B. Pourcentage relatif

Les membranes cellulaires des mammifères contiennent 5 % de glucides. En fonction du type cellulaire, les glucides correspondent à 2 à 10 % du poids de la membrane plasmique. Sur les 8 % de glucides de la membrane plasmique de l'hématie, 93 % sont unis par des liaisons covalentes aux protéines (glycoprotéines) et 7 % aux lipides (glycolipides). Les glucides membranaires sont des glucides ramifiés formés par moins de 15 monomères. Les résidus glucidiques, dans la membrane plasmique, sont *toujours* situés sur le *versant extracellulaire* de la membrane : ils constituent le *cell coat*, une partie essentielle de la membrane.

C. Mise en évidence du *cell coat*

1. Étude de la localisation des oses membranaires

Les techniques de *coloration histochimique* comme le réactif de Schiff, le rouge de ruthénium ou le protéinate d'argent mettent en évidence, globalement, les glucides. La localisation des oses ou des groupes osidiques dans les membranes, et en particulier dans la membrane plasmique, est réalisée en utilisant les propriétés des *lectines*. Ces protéines végétales reconnaissent une séquence spécifique de résidus glucidiques de glycoprotéines de la membrane plasmique. Les principales lectines utilisées en biologie cellulaire sont : l'*agglutinine* du germe de blé qui se lie à l'*acétylglucosamine* des glycoprotéines, l'*agglutinine* du soja qui se combine au galactose et également à l'*acétylglucosamine*, et la *concanavalline A* du haricot (*Phaseolus vulgaris*) qui se fixe sur le glucose ou le mannose. Ces lectines sont conjuguées à la ferritine (460 kDa), une protéine très dense aux électrons. Il est alors possible de localiser avec précision, sur les micrographies électroniques, l'emplacement occupé par un type déterminé d'ose.

2. Localisation

Les résidus osidiques des glycolipides et des glycoprotéines membranaires sont toujours localisés sur la face extracellulaire des membranes où ils constituent le *cell coat* ou *glycocalyx*.

D. Structure

Il est formé de fins filaments ramifiés, plus ou moins serrés, à disposition perpendiculaire au feuillet externe de la membrane plasmique. Il revêt le même aspect sur les microvillosités des entérocytes (fig. 3.17) ou des tubes contournés du rein, sur la membrane apicale des cellules à pôle muqueux fermé de l'estomac.

Il constitue un *feutrage filamentaire* ou fibrillaire situé dans la partie *la plus externe de la membrane plasmique* de toutes les cellules eucaryotes, auquel peuvent s'associer des productions cellulaires particulières comme du collagène ou du mucus par exemple. L'épaisseur du *cell coat* varie en fonction du type cellulaire étudié.

E. Constituants du *cell coat* (fig. 3.18)

1. Glycoprotéines

Les glycoprotéines sont des complexes protéine-polysaccharide. Elles contiennent des hexosamines acétylées comme la *N-acétylglucosamine* ou la *N-acétylgalactosamine*, et des hexoses comme le mannose ou le galactose.

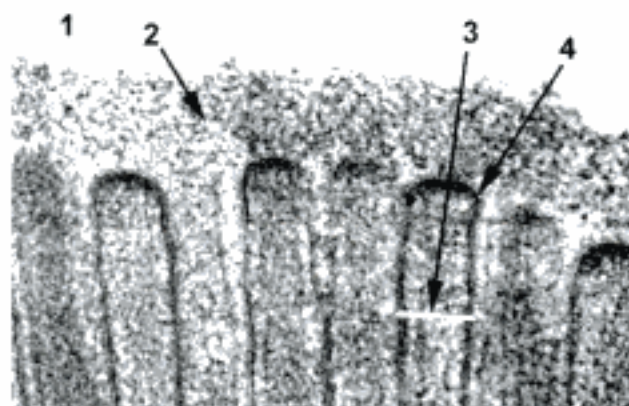


Fig. 3.17

Structure du *cell coat*.

1. Milieu extracellulaire. 2. *Cell coat*. 3. Microvillosité intestinale. 4. Membrane plasmique.

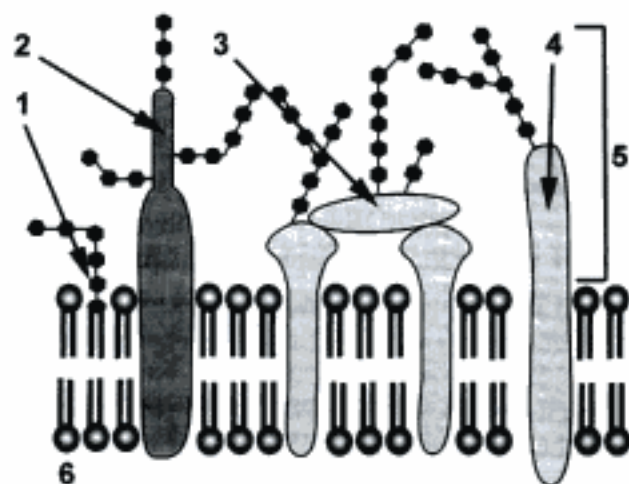


Fig. 3.18

Organisation du *cell coat*.

1. Glycolipide. 2. Protéoglycane transmembranaire. 3. Glycoprotéine absorbée. 4. Glycoprotéine transmembranaire. 5. *Cell coat*. 6. Cytoplasme.

Elles contiennent également un acide sialique, l'*acide N-acétylneuraminique*, situé en position terminale sur les chaînes oligosaccharidiques, qui est très riche en charges négatives. Les oses des glycoprotéines membranaires sont attachés aux acides aminés dans les chaînes polypeptidiques des protéines intramembranaires *via* le résidu acétyl. La liaison de ce radical à la protéine est une liaison covalente : elle peut se faire de deux manières différentes : elle est soit O-glycosidique soit N-glycosidique. La *liaison O-glycosidique* correspond à une liaison à l'atome d'oxygène de la chaîne latérale de la *sérine* ou de la *thréonine*. La *liaison N-glycosidique* correspond à une liaison à l'atome d'azote de la fonction amide de la chaîne latérale de l'*asparagine*.

La séquence des aminoacides située à proximité d'un ose lié à une chaîne latérale protéique est Asn-X-Ser (asparagine-résidu quelconque-sérine) ou Asn-X-Thr (asparagine-résidu quelconque-thréonine) (voir chapitre 16 : « Glycosylation », p. 465).

2. Glycolipides

a. Localisation

Ils sont localisés exclusivement dans le feuillet externe de la membrane plasmique où leur fraction oligosaccharidique est exposée à la surface cellulaire.

b. Fonction

Les oligosaccharides des glycolipides des membranes plasmiques d'érythrocytes définissent le groupe sanguin A, B, AB ou O des individus. Un individu du groupe A possède une enzyme qui ajoute une N-acétylgalactosamine à l'extrémité d'une chaîne alors que, chez un individu du groupe B, une enzyme ajoute le galactose au bout de la chaîne. Les individus AB ont les deux enzymes, alors que ceux du groupe O n'ont pas d'enzyme capable de fixer l'un ou l'autre sucre terminal.

On a également montré que les glycolipides jouent un rôle dans certaines maladies infectieuses ; la toxine du choléra et les virus de la grippe pénètrent dans leur cellule cible en se liant d'abord aux gangliosides de la surface cellulaire.

3. Éléments intrinsèques et extrinsèques du *cell coat*

Le *cell coat* contient des *éléments intrinsèques* qui sont enchâssés dans la membrane comme les glycoprotéines et les glycolipides ou la glycophorine. La glycophorine n'existe que dans les hématies : une hématie en contient environ un million de molécules. Elle est la première protéine séquencée et clonée. Cette protéine majeure de la membrane plasmique des érythrocytes est une petite protéine *single-pass*, d'un poids moléculaire de 30 000 Da, constituée par 131 acides aminés. La partie transmembranaire de la glycophorine est une hélice alpha constituée par 23 acides aminés. Elle possède une partie aminoterminal glycosylée, déployée à la surface cellulaire et formée par une centaine de résidus glucidiques. Les sucres correspondent à 60 % de la masse de la protéine : 80 % des sucres sont de l'acide sialique. Les fonctions de cette protéine sont mal connues ; elle agirait comme un récepteur de virus : la fixation de virus sur cette molécule provoque l'hémagglutination (agglutination des hématies).

Le *cell coat* contient également des *éléments extrinsèques*, protéines absorbées par le *cell coat* comme la fibronectine, la laminine qui appartiennent à la matrice extracellulaire.

F. Fonction du *cell coat*

1. Participation au maintien de l'asymétrie membranaire

Les glycoprotéines et les glycolipides membranaires participent au maintien de l'asymétrie des membranes biologiques. L'importante hydrophilie des oses contraint les glycoprotéines ou les glycolipides à se localiser au voisinage de la surface aqueuse. En effet, l'insertion d'une chaîne oligosaccharidique dans la partie hydrocarbonée de la membrane nécessiterait une dépense énergétique considérable. Il existe donc une barrière « énergétique » qui s'oppose au passage d'une glycoprotéine du feuillet extracellulaire au feuillet cytosolique.

2. Protection de la membrane plasmique

Le *cell coat* est une structure péricellulaire particulièrement résistante aux enzymes mucolytiques ou protéolytiques : la hyaluronidase et la neuraminidase sont les seules enzymes capables de le lyser. Le *cell coat* joue un rôle de protection de la membrane plasmique grâce à ses fonctions mécaniques. Il préviendrait les ruptures de la membrane apicale des cellules, en agissant comme un filtre pouvant éliminer les grosses molécules.

3. Charge cellulaire de surface

Les glucides donnent à la cellule une enveloppe anionique fortement polarisée. Ils représentent une couche de charge générale négative qui peut intervenir dans les mouvements de substances chargées à travers les membranes. Le *cell coat* des myocytes cardiaques, en piégeant une grande quantité d'ions Ca^{2+} , facilite la pénétration de ces ions dans ces cellules, déclenchant ainsi leur contraction.

4. Phénomènes de reconnaissance

Les cellules sont capables de reconnaître des cellules appartenant au même individu : l'organisme peut reconnaître ce qui est lui (*self*) et ce qui lui est étranger (*not self*). C'est là un moyen de défense absolument remarquable.

Expérience

Ainsi, un lymphocyte circule sans entrave dans son organisme d'origine. S'il est introduit dans un autre organisme appartenant pourtant à la même espèce, il est rapidement détruit par les cellules réticulaires de l'hôte qui l'identifie comme étranger. Cette propriété dépend du *cell coat* : en effet l'intégrité des glycoprotéines de la surface cellulaire est essentielle au lymphocyte normal. Le lymphocyte préalablement traité par des glucosidases, qui altèrent la constitution du *cell coat*, est phagocyté par les cellules réticulaires de l'organisme dont il est issu. Les glycoprotéines confèrent donc au lymphocyte la possibilité d'être reconnu comme *self* par l'organisme dont il est originaire.

Ce sont les glycoprotéines et les glycolipides du *cell coat* qui possèdent des *propriétés antigéniques* : elles permettent à l'organisme de reconnaître ses propres cellules et de distinguer les cellules étrangères. Les glycoprotéines sont le support des antigènes M, N, et des antigènes d'histocompatibilité. Les oligosaccharides des glycolipides des membranes plasmiques d'érythrocytes définissent le groupe sanguin A, B, AB ou O.

Ces antigènes dits *antigènes de surface* peuvent être mis en évidence par une lectine (une phytohémagglutinine) marquée à la *ferritine*. Cette volumineuse molécule est facilement visible en microscopie électronique. Or, les phytohémagglutinines se fixent sur des glucides spécifiques portés par des molécules protéiques. Dans de telles conditions, les sites antigéniques sont localisés par la présence de deux à huit molécules de ferritine fixées à la surface cellulaire.

5. Activités enzymatiques du *cell coat*

Les techniques de coloration négative révèlent la présence d'unités globulaires de 5 à 6 nm, attachées à la membrane plasmique par une courte constriction de 2 nm de diamètre, dans le *cell coat* des cellules intestinales, des hépatocytes, etc. (fig. 3.19).

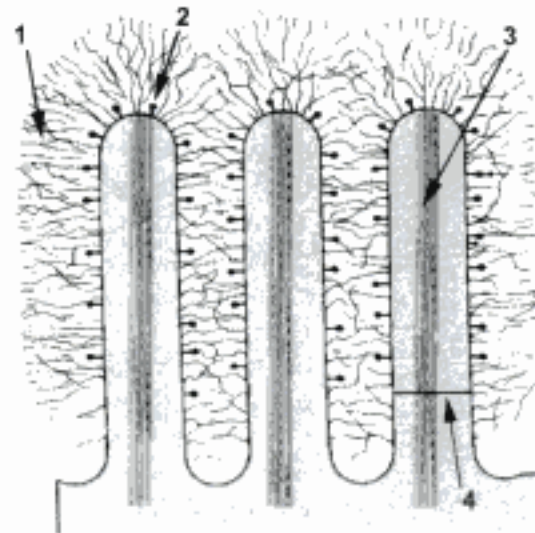


Fig. 3.19

Cell coat d'une cellule intestinale.

1. Cell coat. 2. Maltase. 3. Faisceau d'actine. 4. Microvillosité.

Ces unités globulaires contiennent de la leucoaminopeptidase pour les particules isolées du *cell coat* des hépatocytes, et de la maltase pour les cellules intestinales.

6. Adhésivité

L'adhésivité intercellulaire et entre les cellules et la *matrice extracellulaire* est un phénomène qui apparaît avec les métazoaires. Les assemblages de cellules se réalisent dès le début du développement embryonnaire. En culture, des cellules embryonnaires d'origine différente retrouvent leurs homologues et reconstituent des tissus comparables aux tissus parentaux. Ces expériences mettent en évidence un phénomène important, le lien entre la reconnaissance et l'adhésivité. Elles ont permis d'isoler toute une série de substances adhésives (voir chapitre 7, p. 131).

VI. Rapport de la membrane plasmique avec la matrice extracellulaire

A. Définition

La *matrice extracellulaire* ou ECM (*Extracellular Matrix*) est l'ensemble des molécules situées dans le milieu extracellulaire. Elle entre en rapport avec le *cell coat*. Elle contient des structures moléculaires complexes qui sont utilisées comme support (substrat) par les cellules.

L'ECM est un réseau de molécules qui interagissent les unes avec les autres. L'ECM peut être solide et très organisée : par exemple, les ostéocytes (cellules osseuses) sont contenus dans une substance solide disposée en lamelles concentriques, les chondrocytes sont situés dans la substance fondamentale cartilagineuse. À l'opposé, l'ECM peut être formée par l'association amorphe de *protéines* et de *polysaccharides*.

L'ECM comprend du *collagène fibrillaire et non fibrillaire*, des molécules comme la *fibronectine* et la *laminine* situées souvent dans le *cell coat*, des *molécules organisées en lame basale* (sur laquelle reposent par exemple les cellules épithéliales de revêtement, qui entourent les groupes cellulaires, les cellules musculaires ou adipeuses), et des *protéoglycanes*.

B. Collagènes

Les collagènes sont des *glycoprotéines fibreuses*, polymères d'une molécule élémentaire, synthétisées par les fibroblastes sous la forme d'un précurseur, le *procollagène*. Au moment de son excrétion, des peptidases extracellulaires le transforment en *tropocollagène*. Le *tropocollagène* est une glycoprotéine, de 300 nm de longueur et d'un diamètre voisin de 1,5 nm, formée par l'enroulement en hélice de trois chaînes polypeptidiques α , porteuses de glucides (glucose et galactose). La structure primaire de chaque hélice est caractéristique d'une forme de collagène : il existe plus de 15 types de collagènes connus numérotés en chiffres romains à partir de I. Aux deux extrémités de la molécule de tropocollagène, les chaînes non spiralées forment les *télopeptides*. Chaque chaîne comprend 1 050 acides aminés : elles sont particulièrement riches en leucine et en hydroxylysine et surtout en glycine : en effet, chaque chaîne est constituée par la répétition de la séquence glycine-A-B (environ 330 répétitions pour le collagène I qui entre dans la constitution de la plupart des tissus conjonctifs) où A et B représentent un acide aminé quelconque.

En s'associant, les molécules de tropocollagène permettent de classer le collagène en *collagène fibrillaire* (par exemple les collagènes I, II, III : protofibrilles \rightarrow fibrilles [0,2 μ m] \rightarrow fibres [1 à 5 μ m] \rightarrow faisceaux) ou collagènes non fibrillaires ou *réticulaires* (par exemple, le collagène IV qui forme des réseaux bidimensionnels dans toutes les *lames basales*).

C. Fibronectine

Cette molécule, isolée à partir des fibroblastes, existe aussi dans le plasma (elle joue un rôle dans la cicatrisation, la phagocytose et la coagulation) et dans la matrice extracellulaire (elle constitue des fibrilles). C'est une protéine ubiquitaire synthétisée par de nombreux types cellulaires y compris les éponges. Cette protéine est un *dimère* : elle est constituée par deux chaînes contenant chacune 2 446 acides aminés. Ces chaînes sont

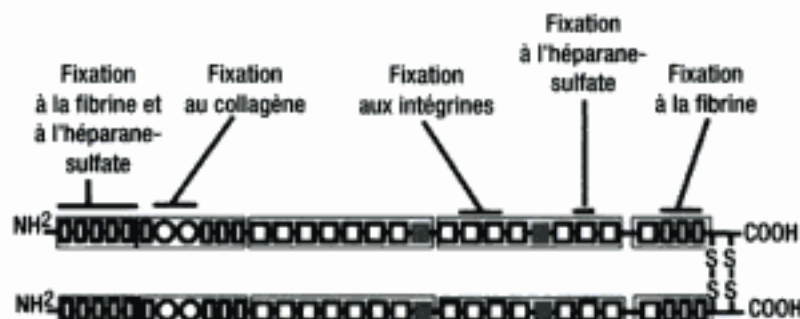
accrochées l'une à l'autre, à leur extrémité C-terminale, par des ponts disulfures. Chaque chaîne a une longueur de 60 nm et une épaisseur de 2 à 3 nm (fig. 3.20).

La fibronectine assure l'adhérence des cellules avec la matrice par l'intermédiaire des sites de fixation aux *intégrines* (le site de fixation aux intégrines est constitué par la séquence RGD [arginine-glycine-asparagine] et au *collagène* mais aussi à l'héparane-sulfate, à la fibrine [le principal constituant de caillots sanguins]).

Fig. 3.20

Molécule de fibronectine.

Chaque région de fixation contient des copies multiples de séquences d'acides aminés qui peuvent être classées en répétition de type I, II ou III de la fibronectine.



Les molécules de fibronectine marquées par des substances fluorescentes sont très facilement visibles à la surface des cellules normales. Dans de nombreux types de cellules tumorales en revanche, la fluorescence est éteinte. Les cellules cancéreuses ne retiennent plus la fibronectine à leur surface. Les cellules deviennent libres et indépendantes dans le tissu conjonctif.

D. Lames basales

Elles sont constituées par une *lamina lucida* (ou *lamina rara*) en rapport direct avec la membrane plasmique du pôle basal des cellules épithéliales, une *lamina densa* médiane et une *lamina fibroreticularis* qui est liée au tissu conjonctif sous-jacent. Elles ont une épaisseur de 50 à 200 nm (fig. 3.21).

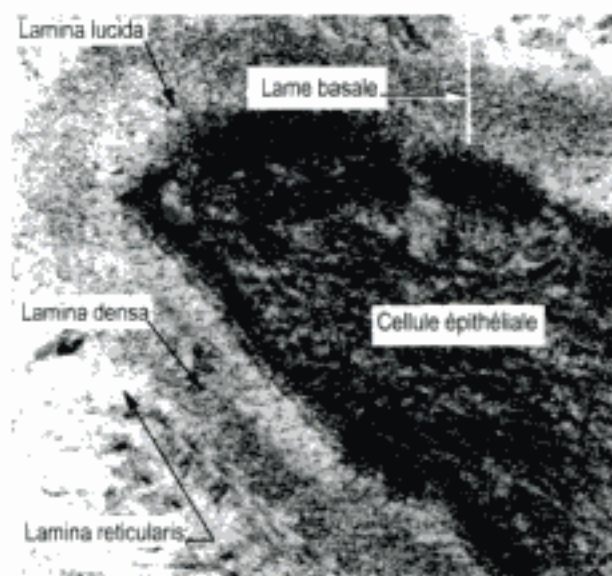


Fig. 3.21

Lame basale.

1. Organisation des lames basales

Les principales molécules qui constituent les lames basales sont le collagène de type IV, la laminine, l'entactine et le perlécan (fig. 3.22) :

- le *collagène de type IV* existe dans toutes les lames basales et il est spécifique des lames basales. Cette molécule, d'une longueur 400 nm, est une triple hélice formée par deux chaînes $\alpha 1(IV)$ et une chaîne $\alpha 2(IV)$. Ces chaînes contiennent dix fois plus d'oses fixés que le collagène de type I. Le trimère de collagène de type IV possède des segments non hélicoïdaux et des domaines globulaires à chaque bout. Les dimères de collagène IV se disposent en feuillets superposés, chaque feuillet étant constitué par les dimères associés en mailles polygonales. Ces feuillets d'appui sont très minces, et forment un lattis où se déposent d'autres molécules extracellulaires ;
- la *laminine* (850 kDa), première des protéines extracellulaires apparaissant au début de l'embryogenèse, est une glycoprotéine trimérique, caractéristique des lames basales, formée par trois chaînes α , β , γ associées les unes aux autres par des ponts disulfures (fig. 3.23).

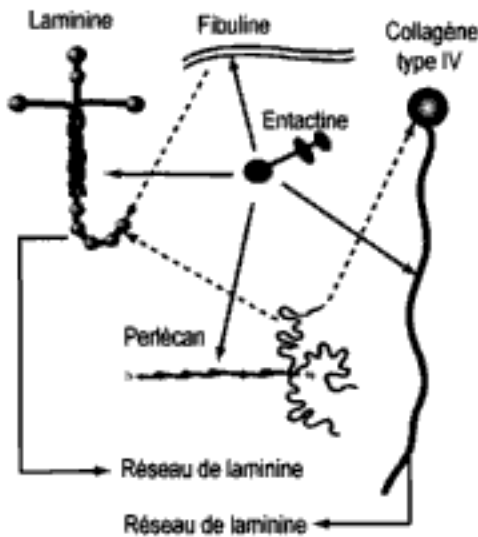


Fig. 3.22

Interrelation des molécules intervenant dans la structure des lames basales. La fibuline est une molécule fixatrice de Ca^{++} présente dans les lames basales, elle joue un rôle vraisemblablement important dans la régulation des liaisons entre les polymères constitutifs de la base.

Elle a la forme d'une croix dont le segment le plus long est constitué par les trois chaînes enroulées en hélice α . Les cellules qui reposent sur une lame basale comme les cellules épithéliales, endothéliales, musculaires ou nerveuses (cellules de Schwann) synthétisent cette protéine.

Elle possède plusieurs sites de liaison : un pour le collagène type IV, deux pour la cellule, un pour les protéoglycanes, un pour l'entactine.

Elle interagit avec d'autres molécules de laminines, avec le collagène IV et l'entactine.

Cette *protéine multiadhésive* forme un réseau fibreux bidimensionnel avec le collagène IV et se lie au domaine extracellulaire d'une protéine intramembranaire, l'*intégrine* (voir chapitre 7, « Les intégrines », p. 137).

Ces deux polymères, le collagène IV et la laminine, forment la charpente de la lame basale (fig. 3.24).

- L'*entactine* ou *nidogène* (148 kDa) est une protéine monomérique qui stabilise la charpente constituée par le collagène IV et les laminines en

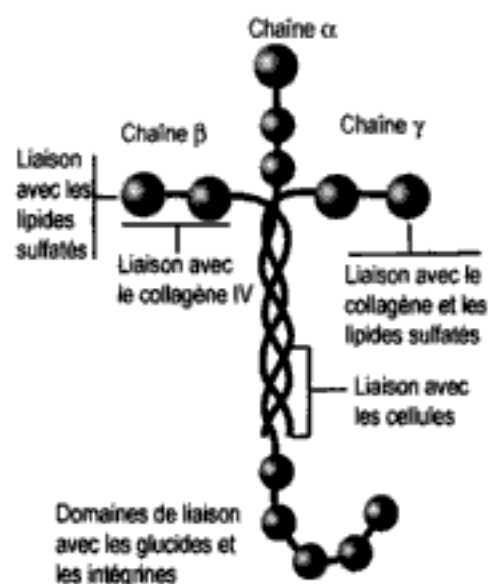


Fig. 3.23

Molécule de laminine.

La laminine possède de nombreux sites de liaison qui lui permettent de réaliser des réseaux.

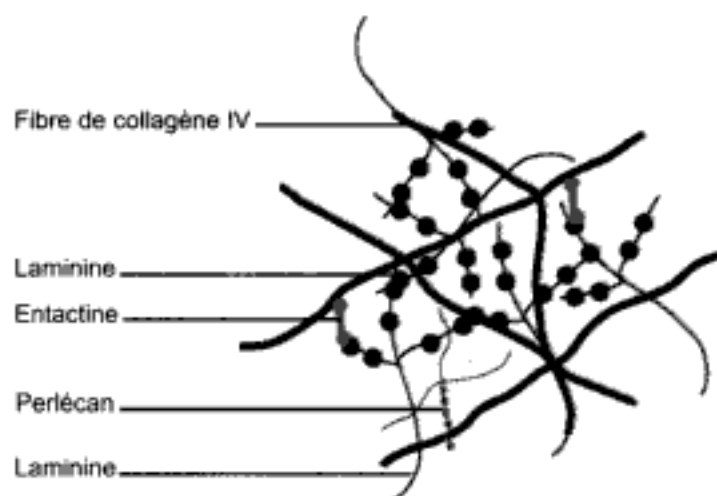


Fig. 3.24

Organisation moléculaire de la lame basale.

formant des liaisons de pontage entre ces molécules. Le complexe ternaire (laminine-entactine-collagène IV) possède la propriété de se lier au perlécane.

- Le **perlécane** (400 kDa) contient trois chaînes d'héparane sulfate qui se branchent sur un cœur protéique, comprenant quatre répétitions de type récepteur aux LDL (*Low Density Lipids*), quatorze motifs immunoglobulines, et différents motifs homologues à des facteurs de croissance et à la laminine. Cette molécule existe dans toutes les cellules qui synthétisent une lame basale (épithéliums, muscles, nerfs périphériques, etc.) : elle se lie à d'autres molécules de perlécane et à de nombreux composants de l'ECM – laminine, entactine, collagène de type IV – et à des molécules de la surface cellulaire.

2. Ancrage de la lame basale

Une lame basale est ancrée sur le tissu conjonctif sous-jacent par des fibres de collagène VII :

- disséminées, dont les deux extrémités s'insèrent sur la lame basale ; elles forment des boucles autour des fibres collagènes sous-jacentes ;
- qui s'insèrent par une extrémité sur la lame basale et par l'autre sur des structures appelées *plaques d'ancrage* (elles ressemblent à la lame basale) : de telles fibres fournissent un attachement solide de l'épiderme sur le derme.

3. Fonctions des lames basales

Les lames basales interviennent dans le maintien de la différenciation cellulaire : par exemple, le maintien de la polarité des entérocytes qui constituent les épithéliums intestinaux.

Elles définissent des voies empruntées par les cellules au cours de leur migration.

Elles cloisonnent des tissus contigus et créent une compartimentation dans un organe, séparant les unes des autres des régions ayant des fonctions différentes.

Elles interviennent dans l'activité cellulaire : par exemple, la digestion de l'ECM des cellules glandulaires des acini des glandes mammaires interrompt la sécrétion lactée. Si la composition de l'ECM est restaurée, les cellules glandulaires reprennent leur activité sécrétoire.

Elles jouent un rôle de filtre dont la porosité est réglée par les liaisons entre les constituants des lames basales.

E. Protéoglycanes

L'ECM contient de grandes quantités de *protéoglycanes*. Un protéoglycane possède une molécule protéique axiale sur laquelle sont branchées des chaînes de glycosaminoglycanes (GAG) *longues* et *non ramifiées* (les sucres des *glycoprotéines* sont courts et ramifiés). Les chaînes sont constituées par la répétition d'un disaccharide A-B, A et B représentant deux sucres différents. Le sucre A est généralement modifié en acide glucuronique ou en acide iduronique et le deuxième sucre est aminé (par exemple N-acétyl-glucosamine, ou N-acétylgalactosamine), ou sulfaté (porteur d'un groupement $-SO_3$). Les GAG ont une forme allongée. Ils sont porteurs de nombreuses charges négatives, attirent les molécules d'eau. Les propriétés de la matrice sont déterminées par les quantités relatives d'eau et les types de GAG. Le degré de consistance de la substance fondamentale est proportionnel à la quantité de GAG (fig. 3.25).

La substance fondamentale joue un rôle de tamis moléculaire à travers lequel les nutriments et autres substances dissoutes diffusent des capillaires aux cellules et vice versa.

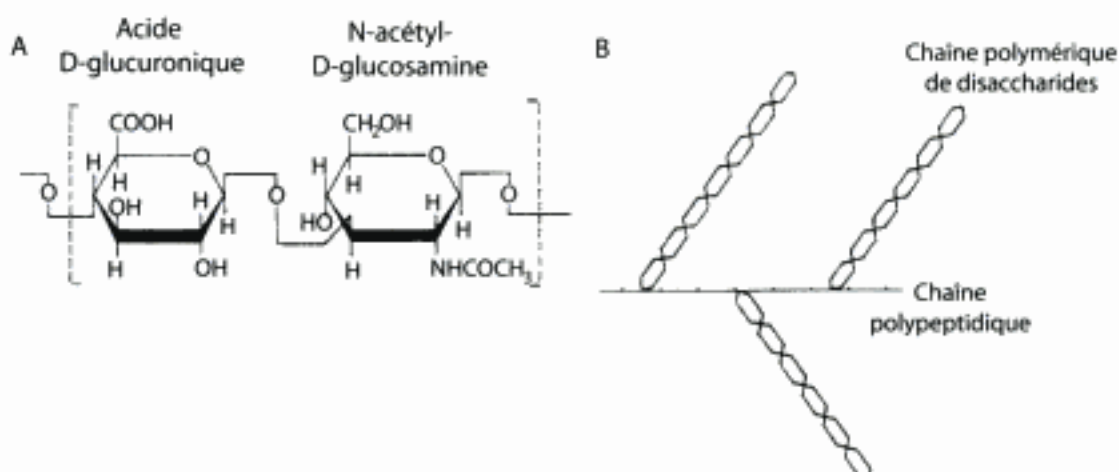


Fig. 3.25

Protéoglycane : schéma général d'une molécule.

A. L'acide hyaluronique est un polymère d'un disaccharide formé par l'acide D-glucuronique et la N-acétyl-D-glucosamine.

B. Les chaînes polymériques non ramifiées se branchent sur une chaîne polypeptidique pour former des protéoglycanes.

POINTS CLÉS

► La *double couche lipidique* est constituée par des phospholipides, du cholestérol et des sphingolipides. La répartition *asymétrique* des lipides est nécessaire à certaines fonctions de la membrane plasmique comme la transformation des informations en signaux intracellulaires. L'insaturation des chaînes aliphatiques, la concentration en cholestérol, la température contrôlent la *fluidité* de la membrane plasmique. Les lipides et plus particulièrement les sphingolipides s'associent en microdomaines lipidiques, les DIG (ou *rafts*) qui fixent les protéines membranaires.

► Les *molécules protéiques* de la membrane plasmique sont approximativement cent fois moins nombreuses que les molécules lipidiques. Elles traversent la membrane une ou plusieurs fois. Leur extrémité aminoterminal peut être cytoplasmique (type I) ou extracellulaire (type II). La plupart des protéines transmembranaires s'associent aux lipides par des liaisons non covalentes. En revanche les protéines situées en dehors de la membrane plasmique mais ancrées dans la bicouche se lient à un lipide par des liaisons covalentes (par l'intermédiaire de GPI sur la face externe, d'une chaîne hydrocarbonée sur la face cytosolique). Les protéines périphériques ne se lient jamais d'une manière covalente aux lipides. Les protéines membranaires interviennent dans le passage de substances, la reconnaissance cellulaire, l'inhibition de contact, l'adhésion des cellules, etc.

► Le *cell coat* – constitué par les affleurements oligosaccharidique des glycoprotéines, des protéoglycanes et des glycolipides intrinsèques et extrinsèques extracellulaires – protège la membrane plasmique, confère à la surface cellulaire une charge négative, piège les molécules, possède des activités enzymatiques, intervient dans l'adhésion cellulaire.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. La membrane plasmique

- ☐ A. Constitue une frontière physique continue entre la cellule et le milieu externe.
- ☐ B. Est une structure rigide.
- ☐ C. Est visible en microscopie photonique.
- ☐ D. Son aspect trilamellaire en microscopie électronique est dû à l'agencement des protéines par rapport aux lipides.
- ☐ E. La cryofracture permet de visualiser l'ensemble des protéines membranaires.

2. Les lipides membranaires

- ☐ A. Sont 100 fois plus nombreux que les protéines.
- ☐ B. Les sphingolipides ont deux acides gras.
- ☐ C. Les glycolipides dérivent principalement des sphingolipides.
- ☐ D. Les glycolipides comportent toujours des ramifications complexes de sucres.
- ☐ E. Les glycolipides peuvent être phosphorylés.

3. Les acides gras chez les animaux

- ☐ A. Correspondent à la formule chimique suivante $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$ avec n impair.
- ☐ B. Ont tous une forme rectiligne.
- ☐ C. Peuvent exister à l'état libre dans la membrane.
- ☐ D. Seuls les insaturés sont ramifiés.
- ☐ E. Les insaturés ont au moins une double liaison.

4. Les phosphoglycérides

- ☐ A. L'acide phosphorique est porté par le C2 glycérol.
- ☐ B. Les deux acides gras peuvent être différents.
- ☐ C. Leur nomenclature repose sur la nature de l'alcool.
- ☐ D. Leur distribution est asymétrique entre les deux feuillets.
- ☐ E. Constituent la majorité des phospholipides.

5. Le cholestérol

- ☐ A. Régule la fluidité membranaire.
- ☐ B. Est spécifique des membranes plasmiques de cellules animales.
- ☐ C. Peut être glycosylé.
- ☐ D. Est uniformément réparti dans la membrane plasmique.
- ☐ E. Est incapable à lui seul de former des feuillets lipidiques.

6. Le mouvement dit flip flop des lipides

- ☐ A. Est spontané dans certaines régions de la membrane plasmique.
- ☐ B. Est sous la dépendance d'enzymes.
- ☐ C. Se fait toujours dans le sens feuillet cytoplasmique vers feuillet externe.
- ☐ D. Ne concerne pas les glycolipides.
- ☐ E. Tend à faire disparaître l'asymétrie membranaire.

7. Les DIG

- ☐ A. Sont des regroupements de cholestérol et de sphingolipides.
- ☐ B. Ne concernent que le feuillet externe de la membrane.
- ☐ C. Constituent une région riche en protéines à ancre GPI.
- ☐ D. Se caractérisent par regroupement de glycolipides.
- ☐ E. Se caractérisent par une fluidité membranaire plus faible.

8. Les protéines membranaires

- ☐ A. Les protéines extrinsèques ne sont localisées qu'à la surface externe de la membrane plasmique.
- ☐ B. Les protéines intrinsèques sont localisées à la surface interne de la membrane plasmique.
- ☐ C. Les ancrs lipidiques des protéines sont différentes entre les faces externe et cytosolique.
- ☐ D. Les ancrs lipidiques sont toujours associées aux acides aminés terminaux.
- ☐ E. Les protéines transmembranaires sont associées par des liaisons covalentes aux acides gras insaturés des lipides voisins.

9. Les protéines transmembranaires

- ☐ A. Possèdent automatiquement plusieurs segments transmembranaires.
- ☐ B. Sont amphipathiques.
- ☐ C. Le segment transmembranaire peut prendre n'importe quelle forme dans l'espace.
- ☐ D. Les protéines single pass sont des transporteurs.
- ☐ E. Sont toutes associées à des éléments cytosquelettiques.

10. Le cell coat

- ☐ A. Correspond uniquement aux résidus glucidiques des glycoprotéines.
- ☐ B. Est composé uniquement de sucres simples (glucose galactose).
- ☐ C. Joue un rôle de protection de la membrane.
- ☐ D. A pour fonction de stocker des ions sodium.
- ☐ E. Peut avoir des activités enzymatiques.

11. Quelles sont les molécules faisant partie de la matrice extracellulaire ?

- ☐ A. Le collagène.
- ☐ B. Les cytokératines.
- ☐ C. Les protéoglycanes.
- ☐ D. Les lamines.
- ☐ E. Les fibronectines.

12. Les protéoglycanes

- ☐ A. Sont des glycoprotéines de grande taille.
- ☐ B. Sont l'association de protéines et de glycosaminoglycanes.
- ☐ C. Les glycosaminoglycanes sont des répétitions de disaccharides.
- ☐ D. Les glycosaminoglycanes sont ramifiés.
- ☐ E. La fibronectine peut être présente en dehors de la matrice extracellulaire.

13. Le collagène

- ☐ A. Il existe plusieurs types de collagène.
- ☐ B. Une molécule de collagène se présente sous forme d'une double hélice de chaînes peptidiques différentes.
- ☐ C. Il est composé d'acides aminés particuliers : hydrolysine et hydroxyproline.
- ☐ D. Est une protéine non glycosylée.
- ☐ E. L'association entre chaînes peptidique repose sur des ponts disulfures.

QROC

1. Citer le matériel de choix pour l'étude de la membrane plasmique, justifiez votre choix.
2. Pourquoi parle-t-on d'asymétrie membranaire ?
3. Citer les principaux composants d'un sphingolipide.
4. Donnez les principales différences biochimiques entre un glycerolipide et un sphingolipide.
5. Citer le rôle du cholestérol dans la fluidité membranaire.
6. Citer les facteurs intervenant dans la fluidité membranaire.
7. Donner une définition d'une protéine amphipatique.
8. Quelle est la fonction de la scramblase ?
9. Quelle est la proportion des protéines dans la masse de la membrane plasmique ?
10. Donnez la définition d'une protéine bitopique.
11. Qu'appelle-t-on une ancre lipidique ?
12. Quels types de liaisons unissent les protéines transmembranaires aux lipides voisins ?
13. Citer une technique de coloration histologique permettant de mettre en évidence le glycocalyx.
14. Citer les principaux composants de la lame basale.

Pour les corrections, se reporter à la page 575

Les transports perméatifs de la membrane plasmique

- I. Les transports passifs
- II. Les pompes (transports actifs)
- III. Les transporteurs
- IV. Les canaux ioniques

Les transports perméatifs sont des transports transmembranaires qui n'impliquent pas de modifications morphologiques visibles en microscopie électronique de la membrane plasmique. Ils se déroulent sans intervention du cytosquelette. Ils concernent les molécules non polaires de faible poids moléculaire ou des molécules dont le passage dépend de la présence de protéines intramembranaires spécialisées dans le transport spécifique de substances. Ils regroupent les *transports passifs*, qui dépendent de l'énergie fournie par le gradient de concentration de la substance à transporter, et les *transports actifs* dépendant des *pompes* qui consomment de l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP d'origine cellulaire.

I. Les transports passifs

Les bicouches lipidiques de la membrane plasmique forment une barrière entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire. Dans certaines conditions, les molécules traversent la membrane plasmique par diffusion.

La diffusion est un processus au cours duquel le déplacement des molécules se fait à partir d'une région où leur concentration est la plus forte vers celle où elle l'est le moins (loi de Fick). C'est grâce à la diffusion que les diverses parties d'un fluide deviennent homogènes, en composition, température, etc. en se répartissant également dans une enceinte. Dans les membranes, la diffusion peut être simple ou facilitée : si elle est facilitée, elle fait alors intervenir des molécules spécialisées (transporteurs).

A. Diffusion simple

1. Définition

La diffusion simple est le passage transmembranaire des molécules de la région où elles sont le plus concentrées vers celle où elles sont le moins concentrées, c'est-à-dire dans le sens du gradient de concentration, sans dépense d'énergie d'origine cellulaire. La vitesse de diffusion d'une substance croît de manière linéaire en fonction de la différence de concentra-

tion de cette substance entre le compartiment extracellulaire et le compartiment intracellulaire.

2. Conditions nécessaires à la diffusion simple

Le passage des molécules à travers la bicouche par diffusion simple dépend de :

- *la taille des molécules* : les molécules dont la masse moléculaire est supérieure à 150 Da ne peuvent traverser la membrane. La vitesse de pénétration d'une molécule est inversement proportionnelle à son volume : la validité de cette règle ne s'applique qu'aux molécules de petite dimension ;
- *l'absence de polarité* : une molécule polarisée ne traverse pas la membrane plasmique par transport passif.
- *l'absence de charge* : une molécule chargée, même de très petite dimension, et ayant un degré élevé d'hydratation, ne pénètre pas la double couche ; en revanche le CO traverse facilement la double couche (fig. 4.1) ;
- *le coefficient de partition* : au-dessus d'une taille déterminée, la pénétration dépend du coefficient de partition (rapport solubilité dans les lipides/solubilité dans l'eau) ; plus ce rapport s'élève, plus la facilité de passage transmembranaire de la substance augmente ; les molécules solubles dans les lipides (alcools, aldéhydes, cétones, glycérols et anesthésiques) traversent très rapidement la membrane plasmique.
- *le gradient de concentration* : pour une molécule capable de se mouvoir librement à travers la membrane, la vitesse de progression repose sur sa différence de concentration de part et d'autre de la membrane ; la molécule se déplace des régions où sa concentration est la plus forte vers les régions où sa concentration est la plus faible (c'est-à-dire dans le sens du gradient de concentration).

Les substances solubles dans la phase hydrophobe de la membrane (les acides gras, les stérols et les médicaments liposolubles), les gaz (oxygène, dioxyde de carbone et oxyde d'azote) diffusent toujours du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré au travers de la membrane plasmique. De petites molécules hydrophiles non chargées sont capables de traverser la bicouche phospholipidique par diffusion (urée, éthanol, glycérol).

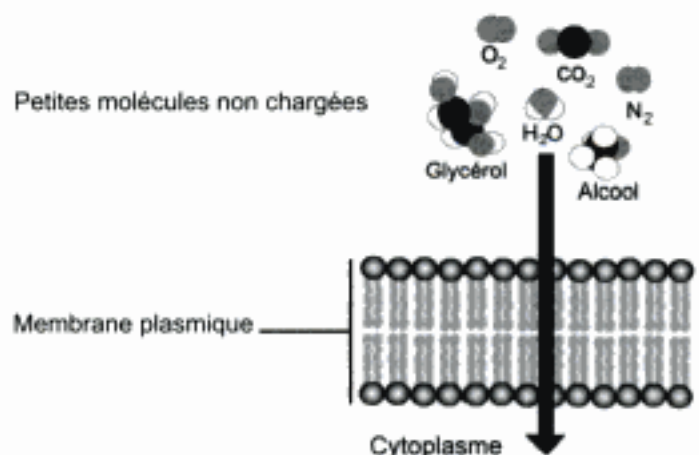


Fig. 4.1

Perméabilité de la membrane plasmique aux molécules non chargées.

D'après G. M. Cooper.

B. Diffusion facilitée

La diffusion facilitée est le passage transmembranaire de molécules (selon la loi de Fick) qui dépend de protéines spécifiques, les *transporteurs* ou *perméases*, dont la spécificité peut être très rigoureuse. Elle ne se déroule que dans le sens des potentiels électrochimiques décroissants (sens du gradient de concentration). Cependant, la vitesse de diffusion facilitée est plus grande que celle de la diffusion simple et atteint une valeur maximale qui demeure constante et qui est la conséquence d'une saturation. Ce mode de transport peut être inhibé par des analogues structuraux d'une molécule qui, habituellement, traverse facilement la membrane. Pour une molécule donnée, la saturabilité et son inhibition par des analogues structuraux confirment la présence de *transporteurs* (voir plus loin).

II. Les pompes (transports actifs)

A. Définition

Les pompes sont des enzymes à localisation intramembranaire qui assurent le *transport actif* des ions ou d'autres substrats, c'est-à-dire contre des gradients de concentration qui augmentent parfois de 100 000 fois : leur activité *consomme l'énergie* libérée par l'hydrolyse de l'ATP. Elles ont pour fonction de créer un gradient de concentration ionique en assurant le transport des cations (très rarement des anions) à travers la membrane. Elles augmentent la concentration intracellulaire d'un ion ou d'une molécule par rapport à sa concentration dans le milieu extracellulaire.

B. Rôle de transporteurs actifs primaires

L'énergie dépensée par les pompes est mise en réserve dans la cellule sous la forme de gradient de concentration. Cette énergie sera utilisée par des *transporteurs* dénommés *transporteurs secondaires* pour assurer le transport de molécules ou d'autres ions contre leurs gradients de concentration.

C. Pompe à sodium

La pompe à sodium, une Na^+/K^+ -adénosine triphosphatase (Na^+/K^+ -ATPase), est une protéine enzymatique, un $\alpha_2\beta_2$ -tétramère d'un poids moléculaire de 270 kDa.

1. Structure

La pompe à sodium est constituée par une sous-unité α et une sous-unité β . La grosse sous-unité α (95 kDa) contient, sur sa face intracellulaire, un site de fixation et d'hydrolyse pour l'ATP et pour les ions K^+ , et sur sa face extracellulaire, un site de fixation des ions Na^+ et un site de fixation des substances stéroïdes cardiotoniques. La petite sous-unité β (40 kDa) est liée à des groupes hydrocarbonés dirigés vers le milieu extracellulaire.

2. Fonctionnement

Le transfert actif du sodium et du potassium se déroule continuellement dans toutes les cellules. Cette molécule extrait trois ions Na^+ de la cellule, tandis qu'elle fait pénétrer deux ions K^+ dans la cellule.

Schématiquement, les étapes successives du fonctionnement de cette pompe sont illustrées dans la figure 4.2.

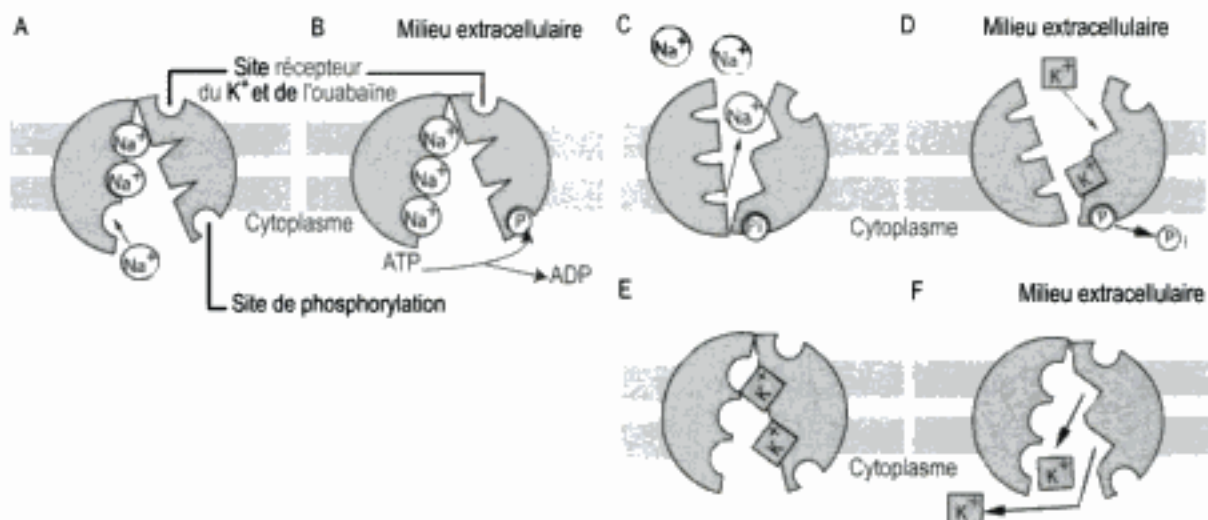


Fig. 4.2

Fonctionnement de la pompe à sodium.

A. La fixation de trois ions Na^+ sur leurs sites récepteurs localisés sur la face exposée au cytoplasme de l'ATPase Na^+/K^+ -dépendante déclenche la phosphorylation de la pompe. **B.** La phosphorylation modifie la forme de l'ATPase Na^+/K^+ -dépendante, ce qui expose les trois ions Na^+ à la face externe. **C.** La modification conformationnelle de l'ATPase libère les trois ions sodium dans le milieu extracellulaire et autorise la liaison de deux ions potassium. **D.** La fixation des deux ions potassium sur l'ATPase déclenche la libération du groupement phosphate. **E.** L'ATPase Na^+/K^+ -dépendante, après libération du phosphate, reprend sa conformation initiale. **F.** Les ions K^+ sont libérés dans le milieu intracellulaire. Les sites de fixation des ions sodium sont à nouveau réceptifs. Le cycle de transport des ions peut alors recommencer.

L'ouabaine et la digitaline se fixent sur le site récepteur des stéroïdes cardiotoniques (ouabaine) situé sur la face en rapport avec le milieu extracellulaire : elles inhibent ainsi le fonctionnement de la pompe à Na^+ ; la concentration intracellulaire en Na^+ augmente. Cet accroissement provoque une élévation de la concentration du Ca^{++} intracellulaire qui renforce les contractions du muscle cardiaque.

3. Fonctions

Cette pompe :

- participe au maintien de la composition ionique cellulaire par rapport au sang ;
- contribue au maintien dans la cellule des ions osmotiquement actifs ;
- crée un potentiel électrique entre la surface externe et la surface interne de la membrane (potentiel électrique diamembranaire) ;
- permet le fonctionnement des canaux voltage-dépendants ;
- participe au fonctionnement des symports Na^+ -glucose : en effet l'activité de ATPase Na^+/K^+ augmente la concentration du sodium intercellulaire et, par voie de conséquence, le gradient de concentration du sodium nécessaire au fonctionnement du symports Na^+ -glucose.

III. Les transporteurs

A. Définition

Les transporteurs (appelés aussi protéines porteuses, perméases, etc.) sont des protéines transmembranaires qui assurent la *diffusion facilitée*, c'est-à-dire le passage de molécules à travers la membrane, sans dépense d'énergie d'origine cellulaire, l'énergie étant fournie par le gradient de concentration de la substance transportée.

B. Propriétés

- Les transporteurs sont spécifiques des molécules transportées : ils reconnaissent les stéréo-isomères D et L.
- Ils sont saturables : ils ne peuvent assurer le passage que de quelques centaines ou milliers de molécules par seconde.
- Ils fonctionnent sans dépense d'énergie fournie par la cellule.
- Ils transportent les molécules dans un sens ou dans l'autre en fonction du gradient de concentration.

C. Mécanisme

Les transporteurs (PM élevé, hydrophiles) fixent, par complémentarité stérique, une molécule extracellulaire déterminée et la transfèrent spécifiquement dans le milieu intracellulaire. Ce type de réaction ressemble à la réaction enzyme-substrat, mais ne modifie pas la structure de la substance transportée. Ces transporteurs (appelés aussi *uniports*) ne font que véhiculer un soluté unique du milieu où il est plus concentré vers le milieu où il l'est moins (fig. 4.3).

Un tel transport peut être bloqué par une inhibition spécifique de la fixation du ligand. Ce blocage dépend :

- d'inhibiteurs dits compétitifs, qui se fixent sur la perméase, au niveau du site de fixation de la molécule à transporter,
- d'inhibiteurs non compétitifs qui se fixent en dehors du site de fixation de la molécule à transporter et modifient la structure de la perméase.

La vitesse de transport atteint son maximum (V_{max}) au moment de la saturation du transporteur (lorsque tous ses sites de fixation sont occupés). La V_{max} caractérise un porteur spécifique.

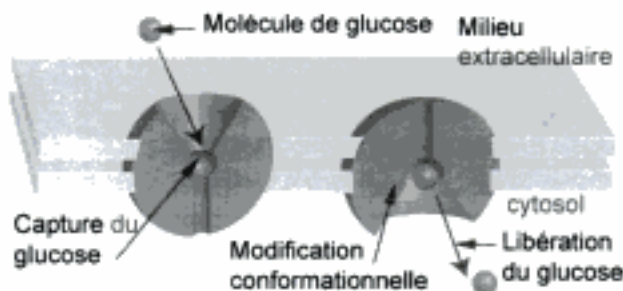
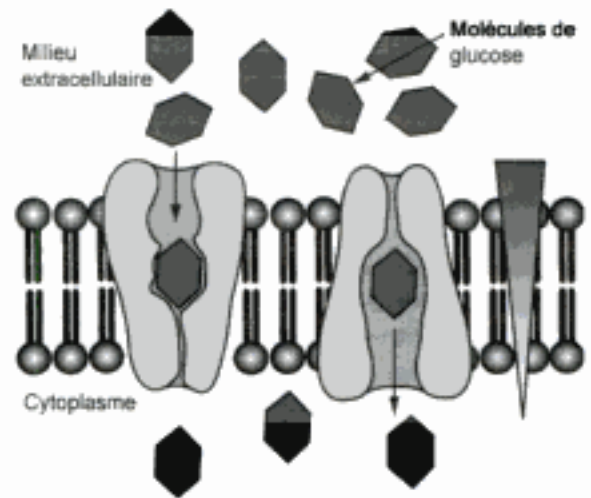


Fig. 4.3
Uniport.

**Fig. 4.4****Diffusion facilitée du glucose.**

La flèche indique le sens du gradient de concentration du glucose. Redessiné d'après G. M. Cooper.

D. Diffusion facilitée du glucose

Les GLUT (*Glucose Transporters* ; transporteurs de glucose) sont des perméases qui transportent le glucose (fig. 4.4).

Chez les mammifères, le transport du glucose est assuré, en fonction du type cellulaire, par l'un des cinq transporteurs de ce type connus actuellement.

GLUT1 existe dans la paroi des érythrocytes et s'exprime également dans la plupart des cellules. Il est régulé par le glucose : la baisse du glucose intracellulaire provoque une augmentation du nombre de ses molécules. Le mouvement du sucre se fait toujours dans le sens du gradient de concentration et l'énergie nécessaire ne proviendra pas de la cellule mais du gradient chimique du glucose. La concentration du D-glucose intracellulaire demeure toujours inférieure à celle du milieu environnant. Des substances ayant une configuration spatiale voisine du D-glucose inhibent son transport : ce fait implique une complémentarité morphologique de GLUT1 et du glucose.

E. Aquaporines

Les aquaporines (AQP) sont des perméases qui assurent le transport transmembranaire des molécules d'eau. Une centaine d'aquaporines sont actuellement connues. La perméabilité de ce transporteur permet de distinguer deux grands groupes d'aquaporines : les *aquaporines dites « classiques »*, perméables à l'eau *stricto sensu*, et les *aquaglycéroporines*, perméables à l'eau, au glycérol ainsi qu'à d'autres solutés de petite taille.

Les AQP classiques transportent sélectivement l'eau : celle-ci passe librement à travers elles alors que les *ions* ou les *protons* ne passent pas. L'AQP1 laisse passer 3 milliards de molécules d'eau par seconde. Dans un pore aqueux, les molécules d'eau s'associent en chaîne : des ponts hydrogènes les unissent les unes aux autres. Les *protons* passent très vite d'une molécule d'eau à l'autre (démonstration des mouvements atomiques de l'eau et des protons à travers les canaux membranaires faite par simulation sur ordinateur). « En fait, les protons se déplacent comme le bâton

dans une course de relais en passant d'un coureur à l'autre » (Benoît Roux). Le pore aqueux existe dans chaque monomère. Il est tapissé de résidus *hydrophobes* permettant un transport rapide de l'eau. Le passage sélectif de l'eau et non pas des protons est dû à un *rétrécissement* (fig. 4.5) du pore situé à peu près au milieu de la membrane plasmique : le diamètre, à ce niveau, est de 3 Å. À ce niveau, l'atome d'oxygène de la molécule d'eau forme des liens hydrogènes avec les groupes amides des asparagines 192 et 76 qui font protrusion dans le pore. Les atomes d'hydrogène sont ainsi réorientés perpendiculairement à l'axe du canal et ne peuvent plus former de liens. L'eau peut passer, mais les protons restent.

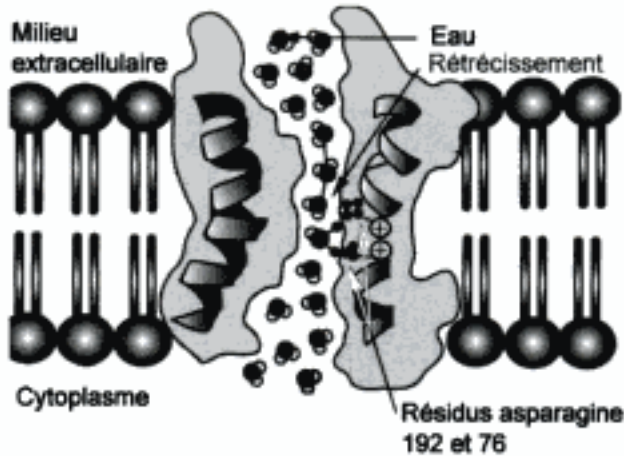


Fig. 4.5

Aquaporine.

Le pore de AQP1 est rétréci au niveau de la partie moyenne de la membrane plasmique. Les molécules d'eau interagissent avec les résidus asparagine (voir explication dans le texte).

Dans les tubes rénaux, la *vasopressine* intervient dans la régulation d'AQP2. Elle se fixe sur les récepteurs de la membrane basolatérale des cellules principales des tubes collecteurs, ce qui déclenche la redistribution de l'AQP2 à partir de la membrane des vésicules intracellulaires apicales. Le nombre des canaux à eau de la membrane plasmique augmente. Plus *tardivement*, les effets de la vasopressine sont transcriptionnels : ils se traduisent par l'augmentation de la synthèse de ces canaux.

Les *aquaglycéroporines* assurent, en plus du transport d'eau, d'autres fonctions. Par exemple, l'aquaporine 3 est localisée dans les kératinocytes. Chez les souris, dont le gène de l'*aquaporine 3* a été invalidé, l'épiderme perd son élasticité, sa fonction de barrière cutanée est altérée et la quantité d'eau contenue dans le stratum corneum est fortement diminuée : la peau est sèche. L'ensemble de ces observations plaide en faveur d'un rôle de l'aquaporine 3 dans l'homéostasie hydrique de l'épiderme. De plus, l'aquaporine 3, par sa perméabilité au glycérol et en interagissant avec la phospholipase D, pourrait également intervenir dans les mécanismes de prolifération et de différenciation des *kératinocytes*.

F. Systèmes de cotransports

Un système de cotransport (symports ou antiports) est formé par l'association d'un transport actif couplé à un transport passif (fig. 4.6).

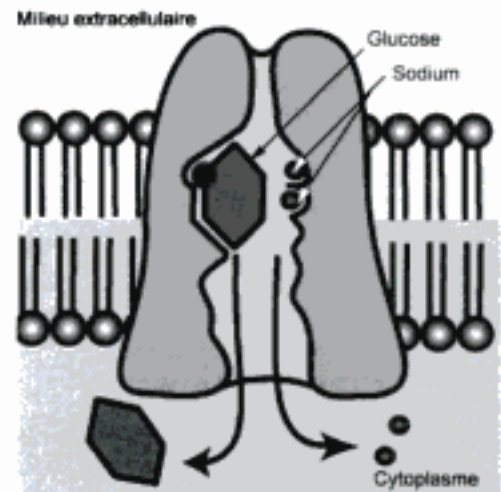


Fig. 4.6

Symport glucose/ Na^+ .

D'après G. M. Cooper.

1. Symports

Les *symports* couplent des transports passif et actif dans le même sens. Ces transports sont couplés directement avec un flux d'ions qui suit un gradient électrochimique. Ainsi, l'ion Na^+ et le *glucose* se lient à une protéine spécifique de transport et pénètrent ensemble dans la cellule (fig. 4.6). Ces cotransporteurs sont, par exemple, situés dans la membrane plasmique du pôle apical des *entérocytes* : ils assurent la pénétration du glucose. La membrane plasmique basolatérale des entérocytes contient des perméases GLUT qui facilitent le transport en dehors de la cellule. Le glucose peut ainsi traverser facilement la cellule. Une Na^+/K^+ -ATPase pompe le Na^+ intracellulaire en direction des espaces intercellulaires et assure le maintien du gradient du Na^+ permettant ainsi au symport $\text{Na}^+/\text{glucose}$ de continuer à fonctionner (fig. 4.7).

2. Antiports

Ils transportent simultanément deux substances en sens opposé, l'une vers le cytoplasme, l'autre vers le milieu extracellulaire.

Les échangeurs Na^+/H^+ (NHE : *Na^+/H^+ Exchanger*) règlent le pH intracellulaire par pénétration d' H^+ dans la cellule dépendant d'un flux de Na^+ en direction du milieu extracellulaire. Ils sont aussi impliqués dans la réabsorption du Na^+ par les cellules épithéliales.

Les échangeurs $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (dénommés bande 3) des hématies humaines échangent le chlore extracellulaire contre HCO_3^- .

IV. Les canaux ioniques

A. Définition

Les canaux ioniques sont des pores constitués par des protéines transmembranaires à passage multiple, qui permettent aux ions ayant une taille et une charge appropriée de traverser librement la bicouche lipidique.

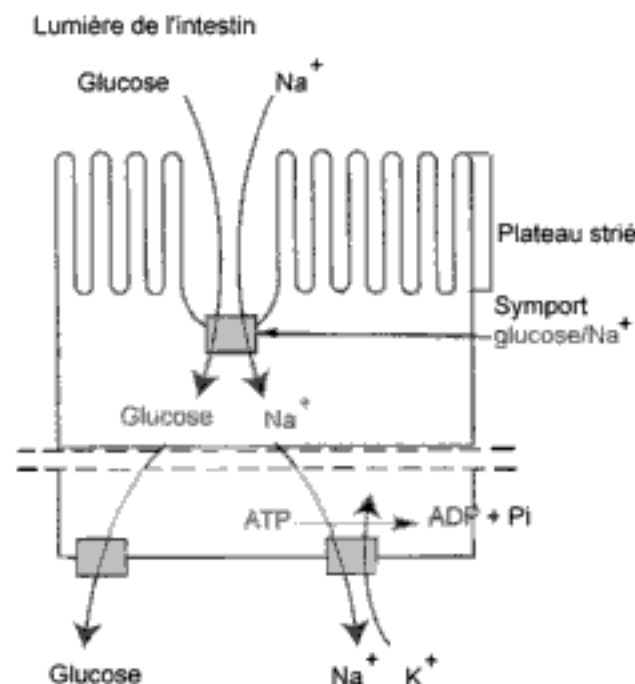


Fig. 4.7

Fonctionnement d'un symport.

Une pompe à sodium maintient une concentration de Na^+ plus élevée dans le milieu extracellulaire que dans la cavité intestinale. Le maintien du gradient du Na^+ permet au symport $\text{Na}^+/\text{glucose}$ de continuer à fonctionner.

B. Organisation moléculaire et fonctionnement

1. Origine commune des canaux

Les analyses des séquences des acides aminés, qui constituent les protéines des canaux des cellules eucaryotes, procaryotes, animales ou végétales, démontrent que les canaux appartiennent à un nombre limité de superfamilles. Il est probable que les canaux ioniques existant actuellement ont une origine unique, une protéine appartenant à un ancêtre commun qui vivait il y a plusieurs milliards d'années.

2. Organisation moléculaire

L'organisation moléculaire des canaux est d'une *manière générale mal connue*. Il n'est donc possible de comprendre leur fonctionnement qu'à partir d'un canal KcsA, un *canal potassique* existant chez les eubactéries, *Streptomyces lividans*. La forme et la structure de la protéine du canal potassique de cette bactérie ont pu être déterminées par cristallographie aux rayons X. Quatre sous-unités transmembranaires identiques s'associent pour limiter le canal central. Les extrémités N- et C-terminales sont situées dans le cytosol. Chaque sous-unité comprend une hélice interne, une hélice externe et une hélice du pore. Les hélices interne et externe sont disposées en entonnoir s'ouvrant sur le versant extracellulaire. L'hélice du pore est courte et inclinée en direction du centre de la membrane qu'elle n'atteint pas. Chacune de ses extrémités est reliée par une boucle à l'hélice externe et par une boucle interne, *boucle de sélectivité*, à l'hélice interne.

Sur le versant cytosolique de la membrane plasmique, les acides aminés de charge négative gardent l'entrée. Le canal est dilaté en un vestibule dans la partie moyenne de la membrane. Les extrémités des quatre hélices du pore sont situées au voisinage du centre du vestibule.

Ce vestibule est relié au milieu extracellulaire par un canal étroit, le *canal de sélectivité* : son diamètre est légèrement supérieur à celui de l'ion potassium. Il est limité par les quatre boucles de sélectivité (les boucles internes de chaque sous-unité). Les oxygènes des fonctions COOH limitent la lumière de ce canal.

3. Mode de fonctionnement et sélectivité

Les ions potassium, même hydratés, traversent le pore et atteignent le vestibule. Ils doivent être déshydratés pour interagir avec les oxygènes des fonctions carbonyles des acides aminés qui limitent le canal de sélectivité. La *déshydratation des ions K^+* est énergétiquement dépendante : l'énergie est fournie par l'interaction de l'ion K^+ avec les oxygènes des carbonyles qui remplacent les molécules d'eau.

Ce canal potassique s'ouvre (fig. 4.8) et se ferme contrairement au canal de fuite potassique (voir plus loin). La fermeture du canal est due à un réarrangement moléculaire : le pore se ferme comme un diaphragme du côté cytosolique.

La *sélectivité du pore* dépend du filtre canalaire. Les ions, avant de pénétrer dans le canal ionique, sont entourés par des molécules d'eau qui constituent une sorte de coquille ionique. Si les ions s'insèrent faiblement dans le canal, ils sont rejetés car la dépense d'énergie nécessaire à l'élimination de la coquille d'eau est supérieure aux forces dues à l'affinité de l'ion pour le canal.

Le débit ionique maximum du flux ionique peut atteindre 10^6 à 10^8 ions par seconde. Il est proportionnel à la concentration ionique : plus elle est élevée et plus le débit est important.

Schématiquement, les canaux ioniques sont constitués par une protéine membranaire formant un canal hydrophile. Le diamètre du canal hydrophile qui assure la sélectivité ionique varie en un seul point, le *canal de sélectivité* ou *filtre canalaire*. Des chaînes hydrophiles d'acides aminés limitent la périphérie du canal. Du côté cytoplasmique, la fermeture et l'ouverture du canal dépendent de groupements protéiques qui agissent comme une porte. Enfin, les ions ne franchissent ces canaux qu'après avoir éliminé les molécules d'eau qui les accompagnent.

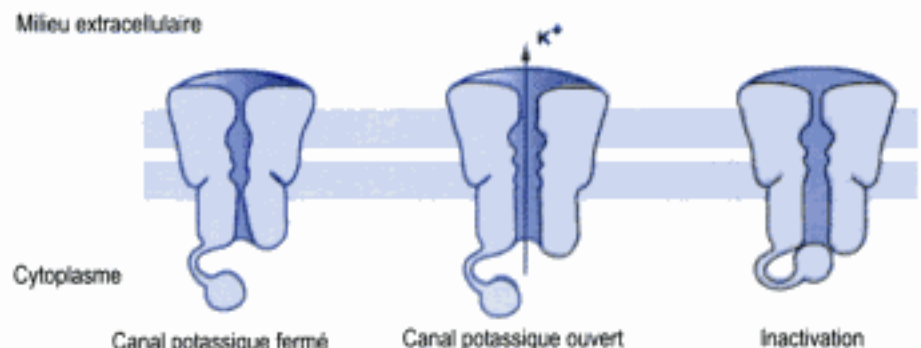


Fig. 4.8

Canal potassique.

D'après T. D. Pollard.

C. Propriétés des canaux ioniques

- Le transport effectué par les canaux ioniques est *environ* 1 000 fois plus rapide que par les transporteurs. Les canaux ioniques sont traversés par des millions d'ions par seconde.
- Les canaux ioniques *potassiques*, *sodiques* et *calciques* sont extrêmement sélectifs. Ils laissent passer les ions qui ne sont pas liés à l'eau : cette sélectivité dépend du diamètre du canal hydrophile. Ils ne permettent le passage que d'un seul type d'ions à la fois.
- Les canaux ne sont pas *ouverts* de manière permanente (sauf le canal de fuite du potassium). L'ouverture des canaux ioniques dépend de portes qui s'ouvrent temporairement en réponse à des stimuli spécifiques.
- Les canaux ioniques sont bidirectionnels : le passage des ions peut se faire dans les deux directions puisqu'il dépend du sens du gradient de concentration (la concentration ionique peut être plus élevée d'un côté ou de l'autre de la membrane).

D. Canaux de fuite du potassium

Les canaux de fuite du potassium sont des canaux qui restent ouverts constamment, que la cellule soit au repos ou stimulée (fig. 4.9).

Ils ne laissent passer pratiquement que le potassium alors que le sodium a un diamètre voisin (0,095 nm pour le Na^+ et 0,133 pour le K^+). Ces canaux se laissent traverser 10 000 fois mieux par le potassium que par le sodium (fig. 4.10).

Ce mouvement passif des ions K^+ contribue au potentiel électrique de la membrane plasmique. La pompe Na^+/K^+ crée un déséquilibre osmotique avec une répartition quantitative inégale des ions puisque la cellule contient peu d'ions sodium. L'équilibrage osmotique dépend donc des autres ions et en particulier du K^+ qui est pompé par la pompe à Na^+/K^+ et qui circule librement par les canaux de fuite.

L'étude comparée des concentrations ioniques dans le cytosol et dans le milieu intercellulaire montre que la concentration du K^+ est plus élevée dans la cellule, tandis que celle du Ca^{++} , du Cl^- , du Mg^{++} , du Na^+ et de HCO_3^- sont plus élevées dans le milieu intercellulaire. Le maintien de ces concentrations ioniques dépend à la fois de la pompe à Na^+/K^+ et du fonctionnement des canaux ioniques.

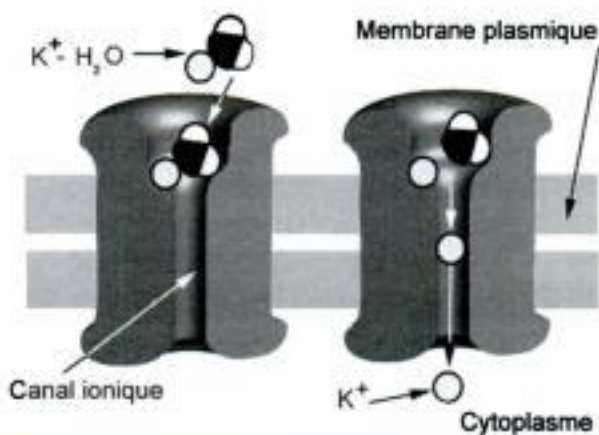


Fig. 4.9

Canal de fuite du potassium.

Le diamètre de ce canal permet l'entrée d'un ion potassium hydraté. Juste avant le rétrécissement de sélectivité, l'ion potassique hydraté interagit avec les chaînes d'acides aminés polaires qui bordent l'ouverture du canal. Cette interaction libère K^+ qui passe par le canal dont le diamètre est très légèrement supérieur à celui du potassium.

Redessiné d'après G. M. Cooper, *The cell, a molecular approach*.

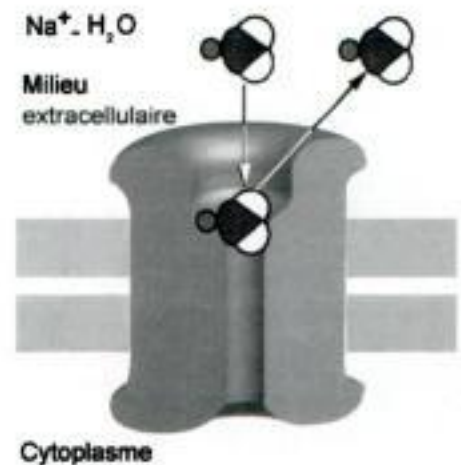


Fig. 4.10

Sélectivité du canal potassique

L'ion sodium hydraté est trop petit pour interagir avec les chaînes d'acides aminés polaires qui bordent l'ouverture du canal. Il ne peut donc pas traverser le canal potassique.

Redessiné d'après G. M. Cooper, *The cell, a molecular approach*.

E. Canaux ioniques voltage-dépendants

Les canaux ioniques voltage-dépendants (canaux Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Cl^-) sont des canaux dont l'ouverture dépend du potentiel de membrane.

Les canaux Na^+ , K^+ jouent un rôle fondamental dans la transmission de l'influx nerveux, c'est-à-dire dans la transmission d'impulsions électriques. La stimulation d'une fibre nerveuse provoque une *onde de dépolarisation*, c'est-à-dire une diminution locale de la polarité entre les deux faces de la membrane, qui se déplace du point excité jusqu'à une des extrémités du neurone. Cette onde de dépolarisation déclenche le fonctionnement des canaux Na^+ et des canaux K^+ qui sont disposés tout au long de la fibre nerveuse depuis le point excité jusqu'à l'extrémité.

La membrane d'un neurone au repos a un potentiel de membrane dit *potentiel de repos* de -70 mV. Les canaux de fuite de K^+ sont toujours ouverts, mais les canaux Na^+ et K^+ voltage-dépendants sont fermés.

Un stimulus qui provoque une dépolarisation de -60 mV ouvre localement les canaux Na^+ voltage-dépendants.

- Le Na^+ pénètre dans le cytoplasme et provoque une inversion temporaire du potentiel de membrane qui atteint $+50$ mV. C'est au cours de cette inversion du potentiel de membrane que se situe le *potentiel d'action*.
- Après une petite fraction de seconde, les canaux Na^+ se ferment, les canaux K^+ s'ouvrent et les ions K^+ traversent la membrane pour gagner l'espace péricellulaire. Il s'établit, localement, un potentiel de -80 mV encore plus négatif que le *potentiel de repos*.
- Immédiatement après leur ouverture, les canaux K^+ se ferment, les canaux de fuite du potassium restent la voie principale pour le déplacement des ions à travers la membrane, et le potentiel de repos se rétablit.

Le potentiel d'action ne reste pas localisé, sa propagation le long de la cellule nerveuse constitue l'*influx nerveux*. Dans la fibre nerveuse myélinisée, les potentiels d'action ne peuvent pas se faire tout au long de la fibre (une gaine très isolante de myéline empêche le passage des ions). Les potentiels d'action se font au niveau des étranglements de Ranvier qui sont, schématiquement, des interruptions courtes de la gaine de myéline. Le canal Ca^{2+} est constitué par un oligomère formé de quatre sous-unités. La sous-unité α , qui est la principale, sert à la fois de pore et de

détecteur des modifications de la charge électrique. Les canaux Ca^{++} s'ouvrent au cours de la dépolarisation de la membrane plasmique. Ils permettent alors le passage spécifique du calcium dans la cellule. Le délai extrêmement court d'ouverture de ces canaux (quelques millisecondes) permet des échanges rapides et finement régulés.

F. Canaux ioniques ligand-dépendants ou chimio-dépendants

Les canaux ioniques ligand-dépendants sont des canaux protéiques (récepteurs canaux) dont l'ouverture dépend de la fixation d'un ligand sur une ou plusieurs de leurs sous-unités, porteuse(s) d'un site récepteur spécifique. Ces canaux ioniques existent dans toutes les cellules, mais plus particulièrement dans les cellules excitables. Les canaux ioniques ligand-dépendants des neurones en sont un exemple.

Le site de fixation du ligand varie en fonction de sa localisation. Il peut être localisé :

- sur la face extracellulaire : le ligand est d'origine extracellulaire ; par exemple, l'acétylcholine (un neurotransmetteur) ouvre les canaux sodiques et provoque la formation d'une onde de dépolarisation à l'origine de l'influx nerveux ; l'ion qui traverse le canal peut être considéré comme un second messager puisque son passage déclenche une réponse de la cellule cible (voir chapitre 6, p. 108) ;
- sur la face interne : le ligand est intracellulaire ; par exemple, les protéines G, le Ca^{++} , l'ATP, l'inositol triphosphate IP3, etc.

G. Canaux ioniques CNG-dépendants (dépendant des nucléosides cycliques)

Ce sont des canaux dont l'ouverture est contrôlée par des nucléotides cycliques, en particulier par le GMPc (guanosine monophosphate cyclique).

Ces canaux jouent un rôle régulateur important dans la fonction cellulaire. La plupart ne sont pas sélectifs des cations (ce qui les différencie aussi des canaux Ca^{++}) mais possèdent une perméabilité élevée pour le Ca^{++} . Ils présentent une homologie avec les canaux ioniques voltage-dépendants. L'activité des canaux CNG est modulée par divers facteurs (phosphatases, Ca^{++} /calmoduline, Ca^{++} endogène). L'augmentation d'un de ces facteurs inhibe leur fonctionnement.

H. Canaux ioniques à ouverture mécanique

Voir chapitre 5, « Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique », p. 103 et « Stéréocils », p. 102.

POINTS CLÉS

- Le *transport passif* ne consomme pas directement l'énergie fournie par la cellule (par exemple, hydrolyse de l'ATP) : il regroupe la diffusion simple et la diffusion facilitée :
 - au cours de la diffusion simple, la vitesse de diffusion croît de manière linéaire en fonction de la différence de concentration de cette substance entre le compartiment extracellulaire et le compartiment intracellulaire ;
 - au cours de la diffusion facilitée, la vitesse de diffusion est plus rapide mais atteint un seuil par saturation des transporteurs.
- Les *pompes* assurent un *transport actif* (elles consomment directement l'énergie fournie par la cellule). Elles assurent le maintien d'un gradient de concentration d'un ion (par exemple le sodium) qui est utilisé par les transporteurs.
- Les *transporteurs* assurent la diffusion facilitée : spécifique, saturable. Leur fonctionnement dépend du gradient de densité de la substance qu'ils transportent ou d'un gradient ionique (symport et antiport). Dans les symports, le transport de la molécule se fait dans le sens du gradient de concentration d'un ion. Dans les antiports, les ions sont transportés simultanément en sens opposé.
- Les *canaux ioniques* sont des pores : ils permettent aux ions ayant une taille et une charge appropriée de traverser librement la bicouche lipidique. Ils sont très sélectifs. La sélectivité dépend du diamètre du pore. Les pores s'ouvrent ou se ferment en réponse à des stimuli. En fonction du type de pore, l'ouverture est contrôlée par une dépolarisation membranaire, la fixation d'un ligand (acétylcholine, guanosine monophosphate cyclique), une action mécanique (canaux ioniques des stéréocils des cellules auditives).
- Le *canal de fuite du potassium* est un pore qui reste constamment ouvert. Il compense le déséquilibre osmotique provoqué par la pompe à sodium. Ce transport passif des ions potassiques contribue au maintien du potentiel électrique de la membrane plasmique.
- L'équilibre osmotique entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire dépend à la fois de la pompe à Na^+/K^+ et du fonctionnement des canaux ioniques.

ENTRAÎNEMENT

QCM

1. Les transporteurs

- ☐ A. Sont considérés comme des enzymes.
- ☐ B. Peuvent changer de configuration lors du transport de molécules.
- ☐ C. Un transporteur de type antiport a besoin que les deux types de substrats soient présents ensemble.
- ☐ D. Modifient la molécule qu'ils transportent.
- ☐ E. Peuvent être des protéines bitopiques.

2. Le transport facilité

- ☐ A. Fonctionne selon le gradient moléculaire.
- ☐ B. Ces transporteurs n'ont pas de spécificité vis-à-vis de la molécule transportée.
- ☐ C. Ces transporteurs n'ont que des inhibiteurs compétitifs.
- ☐ D. Ces transporteurs sont saturables.
- ☐ E. L'aquaporine rentre dans la catégorie des perméases.

3. La pompe Na/K

- ☐ A. Est un antiport.
- ☐ B. C'est la petite sous-unité qui est phosphorylée.
- ☐ C. La ouabaine est un inhibiteur compétitif.
- ☐ D. Fait sortir à chaque cycle 2 K⁺.
- ☐ E. La phosphorylation provoque l'arrivée des Na⁺ dans la pompe.

4. Les canaux ioniques

- ☐ A. Les ions passent non liés à des molécules d'eau.
- ☐ B. Peuvent fonctionner dans les deux sens.
- ☐ C. Sont très sélectifs.
- ☐ D. Sont toujours ouverts.
- ☐ E. Seuls les canaux Cl⁻ sont voltage-dépendants.

QROC

1. Donner une définition simple de la simple diffusion.
2. Lors d'un transport de type symport, quelle est la source d'énergie faisant passer les molécules ?
3. Donner les principales étapes de fonctionnement de la pompe Na⁺/K⁺.
4. Donner la différence entre un inhibiteur compétitif et un inhibiteur non compétitif.
5. Qu'appelle-t-on aquaporine classique ?
6. Qu'appelle-t-on un canal ionique chimio-dépendant ?

Pour les corrections, se reporter à la page 576

Spécialisations de la membrane plasmique

I. Les microvillosités

II. Les stéréocils

III. Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique basolatérale

Les spécialisations de la membrane plasmique sont des différenciations de cette membrane et du cytoplasme superficiel, qui permettent à la cellule d'assurer une ou plusieurs fonctions précises.

Ces différenciations comprennent :

- les microvillosités, isolées ou très nombreuses à la surface de la cellule (plateau strié, bordure en brosse) ;
- les stéréocils ;
- les cils vibratiles (voir chapitre 20, p. 550) ;
- les jonctions intercellulaires (voir chapitre 8, p. 142).

I. Les microvillosités

Les microvillosités sont des expansions cytoplasmiques cylindriques (d'environ 1 μm de longueur et de 0,1 μm de diamètre), limitées par la membrane plasmique apicale, occupées en leur centre par un faisceau de MF. Elles magnifient considérablement la surface de la membrane plasmique.

A. Microvillosités isolées

Les microvillosités sont parfois isolées. La membrane apicale ne dessine alors que quelques microvillosités distantes les unes des autres. Ces microvillosités se caractérisent par l'irrégularité de leur forme, l'inégalité de leur longueur et de leur diamètre.

Ces microvillosités possèdent diverses fonctions. Ainsi, les leucocytes, qui franchiront l'endothélium par diapédèse, émettent des microvillosités qui interagissent avec l'endothélium vasculaire. La diapédèse comprend en effet :

- une phase de roulement à la surface de l'endothélium vasculaire ;
- une phase d'activation des signaux qui provoque une augmentation de la quantité d'intégrines ;
- une phase d'adhérence étroite avec la membrane des cellules endothéliales ;
- une phase de migration transépithéliale.

C'est au cours de la phase de roulement que les leucocytes développent des microvillosités. La membrane de ces microvillosités porte des molécules d'adhésion (la L-sélectine) : elles interviennent dans les contacts temporaires qui se produisent entre les leucocytes et l'endothélium (voir chapitre 7, « Les sélectines », p. 136).

B. Microvillosités groupées

Groupées, les microvillosités recouvrent toute la surface libre du pôle apical de la cellule : l'identité de forme, de longueur, de diamètre, de direction des microvillosités, caractérise ces groupements.

Elles constituent le plateau strié des entérocytes et la bordure en brosse des tubes contournés du rein.

1. Plateau strié des entérocytes

a. Structure

Une zone à striation perpendiculaire à la surface cellulaire recouvre les entérocytes. Cette observation en microscopie optique s'explique en réalité par la présence de très nombreuses microvillosités, en moyenne 1 500 par entérocyte dans le jéjunum, 3 000 dans l'iléon (fig. 5.1).

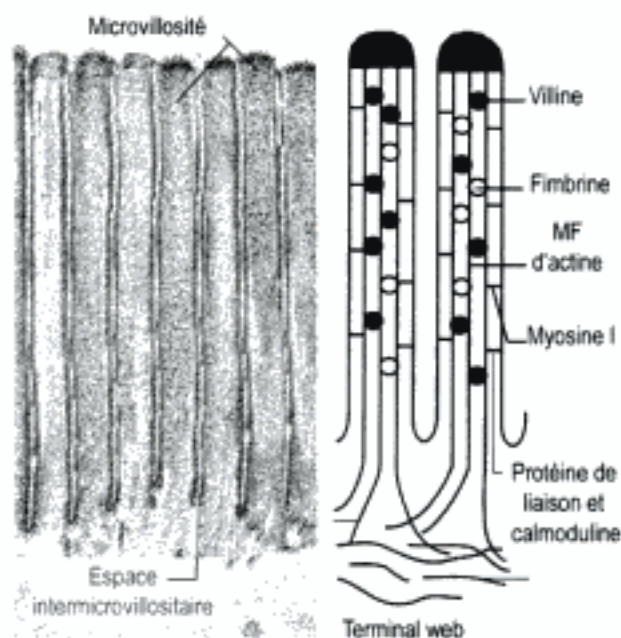


Fig. 5.1

Les microvillosités.

À gauche : coupe longitudinale des microvillosités d'un épithélium intestinal en MET.

À droite : représentation schématique du cytosquelette des microvillosités.

Le cytoplasme de la microvillosité comprend :

- une zone périphérique dépourvue de structure, de 20 à 30 nm d'épaisseur ;
- une zone centrale qui contient 10 à 50 microfilaments d'actine groupés en faisceaux (leur disposition est fréquemment hexagonale).

Ces faisceaux sont dépourvus de tropomyosine et d' α -actinine. Des molécules, la villine et la fimbrine, unissent les microfilaments. La villine, en présence d'un faible taux de calcium, polymérise les microfilaments d'actine dans les microvillosités et les unit en faisceaux. La fimbrine (PM 68 kDa) réunit les microfilaments d'actine en faisceaux résistants (une molécule de fimbrine pour 10 monomères d'actine).

Des molécules d'ATPase filamenteuse, activée par l'actine et formée par un complexe calmoduline/protéine appartenant à la classe des myosines I, réunissent le faisceau de microfilaments d'actine à la face interne de la membrane de la microvillosité. Ces faisceaux interviennent dans le maintien de la forme de la microvillosité. Leur pôle positif est englobé, à l'apex des microvillosités, dans une substance amorphe dont on connaît mal la composition. Le mode d'insertion des filaments d'actine dans la membrane, à l'extrémité des microvillosités, est vraisemblablement complexe (voir chapitre 10, p. 217).

b. Fonctions

L'augmentation de la surface de contact de la membrane apicale avec les nutriments augmente considérablement leur absorption.

2. Bordures en brosse

Elles revêtent le pôle apical des cellules des tubes proximaux du rein. Les microvillosités des bordures en brosse diffèrent des précédentes par leur plus grande longueur. Le fond de l'espace intermicrovillositaire, au lieu de courir transversalement, s'invagine fréquemment.

3. Rôle des microtubules dans la différenciation des microvillosités

La différenciation des microvillosités dépend de l'intégrité des microtubules. Les microtubules sont orientés uniformément vers un espace étroit, l'espace subterminal, situé au-dessous du terminal web. Cet espace contient les éléments nécessaires à l'organisation de microtubules et contrôle l'alignement polarisé des microtubules. La colchicine ou la vinblastine provoque une dépolymérisation des microtubules, de telle sorte que des protéines apicales (phosphatase alcaline, sucrase, isomaltase) se retrouvent cantonnées dans le pôle basal de la cellule. Les microvillosités du pôle apical se différencient tandis que de nombreuses microvillosités se différencient au pôle basal.

4. Dédifférenciation pathologique des microvillosités

Certaines bactéries provoquent la diarrhée par dédifférenciation des microvillosités des entérocytes. *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC : *Enteropathogenic Escherichia coli*) est une des principales causes de diarrhée et de mortalité infantile dans les pays en voie de développement. EPEC se fixe sur les entérocytes par l'intermédiaire de BFP (*Bundle Forming Pili* ; pili formant un faisceau).

Les pili sont des fibres rigides d'un diamètre d'environ 5 nm, situées à l'un de pôles de la cellule bactérienne (fig. 5.2).

Les pili sont responsables des propriétés d'adhérence des bactéries à la surface des tissus épithéliaux et à la membrane des cellules phagocytaires. Après l'étape d'adhérence, les bactéries entéropathogènes transloquent, dans les cellules épithéliales, la protéine Tir qui jouera le rôle de récepteur membranaire pour un composant de leur propre paroi, l'intimine. Ce récepteur Tir est phosphorylé dans la cellule épithéliale, à la suite d'une cascade de signalisations induites par des protéines bactériennes sécrétées. La liaison Tir/intimine permet une jonction intime entre la bactérie et l'entérocyte et déclenche la formation d'une colonne ou piédestal de filaments

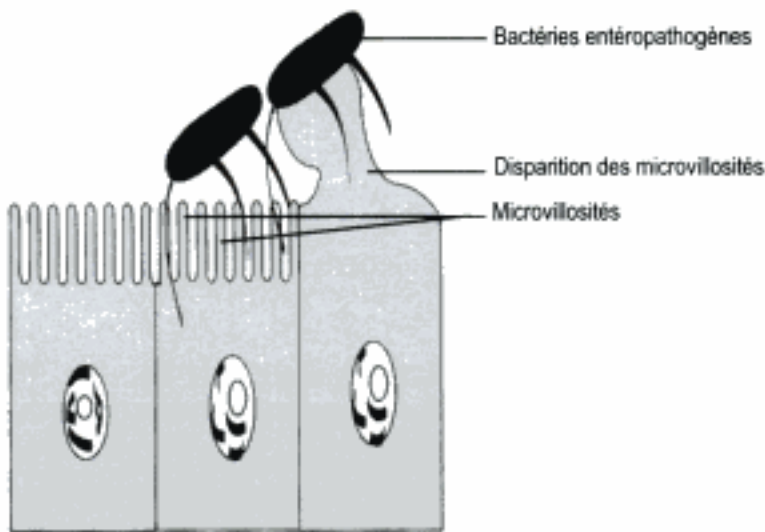


Fig. 5.2

Bactéries entéro-pathogènes
et disparition des microvillosités.

d'actine, d'une dizaine de microns de longueur. Les microvillosités disparaissent, ce qui entraîne une diarrhée par malabsorption.

Ces bactéries pathogènes transfèrent donc leur propre récepteur à la cellule cible, détournent la machinerie de transduction du signal de cette dernière et provoquent un réarrangement du cytosquelette.

II. Les stéréocils

A. Structure

Les stéréocils sont de longues expansions cytoplasmiques immobiles, ressemblant par leur forme à de grandes microvillosités. Ils s'agglutinent par touffes à la surface, par exemple, des voies excrétrices de l'appareil génital mâle ou dans certains organes sensoriels où ils ont été beaucoup plus étudiés.

B. Disposition des stéréocils des cellules auditives

La face apicale des cellules auditives porte des rangées parallèles de stéréocils, d'inégale longueur, disposés en ordre croissant, associés les uns aux autres (chaque rangée a la forme de la lettre V). Les stéréocils adhèrent, par leur extrémité libre, à la membrana tectoria. Dans la même rangée, ils sont reliés latéralement, surtout au voisinage de leur extrémité, par des liens perpendiculaires à leur axe. Un autre ensemble de liens associe les stéréocils de rangées différentes. De plus, l'extrémité des stéréocils les plus courts est liée à l'extrémité du stéréocil le plus grand de la rangée voisine (fig. 5.3).

C. Composition de l'axe des stéréocils

L'axe des stéréocils est occupé par un faisceau de fibres d'actine unies les unes aux autres par des molécules de fimbrine. Des molécules de myosine sont associées à des protéines intramembranaires de liaison. Des canaux cationiques sont localisés dans la membrane plasmique de l'extrémité des stéréocils.

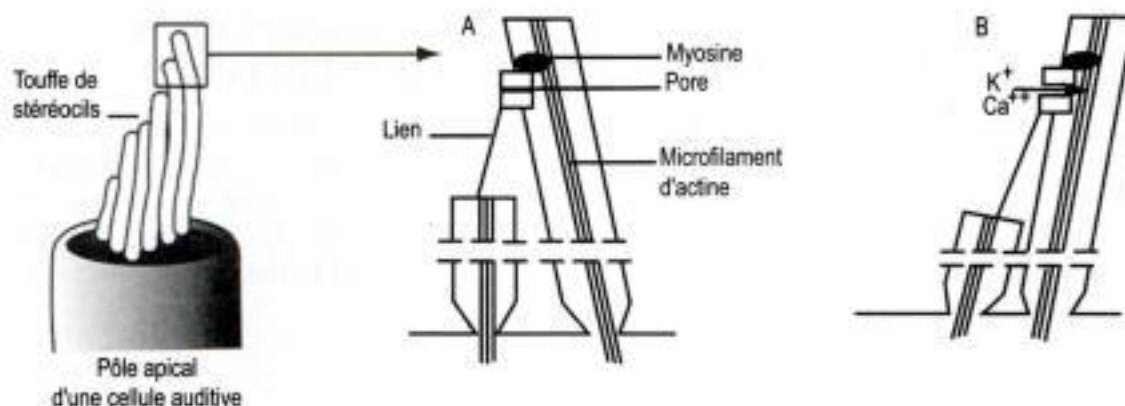


Fig. 5.3

Stéréocils d'une cellule auditive.

Les stéréocils sont associés les uns aux autres par des liens. **A.** Les stéréocils n'ont subi aucun déplacement : le pore est fermé.

B. Un déplacement ouvre le pore : des ions Ca^{++} et K^+ peuvent pénétrer.

D. Transformation des vibrations sonores en potentiel d'action

Les stéréocils transforment les vibrations sonores en potentiel d'action. Quand un stimulus mécanique (une vibration sonore) plie un groupe de stéréocils vers le stéréocil le plus long (déplacement positif), une traction tend les liens qui unissent les stéréocils adjacents. Cette traction provoque l'ouverture des canaux ioniques (canal ionique à ouverture mécanique). Les ions K^+ et Ca^{++} pénètrent dans la cellule et déclenchent la formation de complexes d'actomyosine qui développent une force de tension. Le déplacement des stéréocils induit une augmentation du voltage de la membrane : cette augmentation est transmise aux fibres nerveuses qui se terminent au contact de la cellule. La déviation des stéréocils en direction du stéréocil le plus court, déplacement négatif, provoque une diminution de la tension de liaison entre les stéréocils et de la transduction du potassium et du calcium.

► Microvillosités, stéréocils, cils sont des différenciations du pôle apical. Les microvillosités, expansions cylindriques contenant un faisceau de MF, existent isolément dans de nombreuses cellules, en particulier dans les leucocytes où elles interviennent dans les mouvements de roulement à la surface de l'endothélium. Groupées dans le plateau strié des entérocytes, elles assurent l'absorption des nutriments. Leur destruction par des bactéries entéropathogènes (EPEC) provoque une diarrhée par malabsorption. Les stéréocils des cellules auditives transforment les vibrations mécaniques en un potentiel d'action, grâce à l'ouverture mécanique de canaux ioniques K^+ et Ca^{++} qui dépend des MF axiaux et de molécules de myosine.

III. Spécialisations morphologiques de la membrane plasmique basolatérale

Le pôle basal d'une cellule épithéliale repose sur une lame basale continue qui contient du collagène de type IV et VII, de la laminine, des protéoglycanes, des glycoprotéines. La membrane plasmique du pôle basal présente deux types de différenciation : les hémidesmosomes qui attachent la cellule à la lame basale et des replis particulièrement développés.

A. Hémidesmosomes

Voir chapitre 8, p. 142.

B. Replis de la membrane plasmique basale

Dans la majorité des épithéliums, la membrane plasmique du pôle basal de la cellule, linéaire, non spécialisée, court parallèlement à la lame basale.

Lorsque les cellules épithéliales participent activement à des échanges hydrominéraux dans le sens cellule – matrice (tube contourné proximal du rein, par exemple), la membrane plasmique dessine des replis plus ou moins profonds qui pénètrent dans le cytoplasme basal et le divisent en compartiments ouverts vers le cytoplasme (fig. 5.4). Les récepteurs des hormones, qui contrôlent ces échanges, se localisent dans ces membranes, tandis que de nombreuses mitochondries, qui fournissent l'ATP nécessaire, occupent ces compartiments.

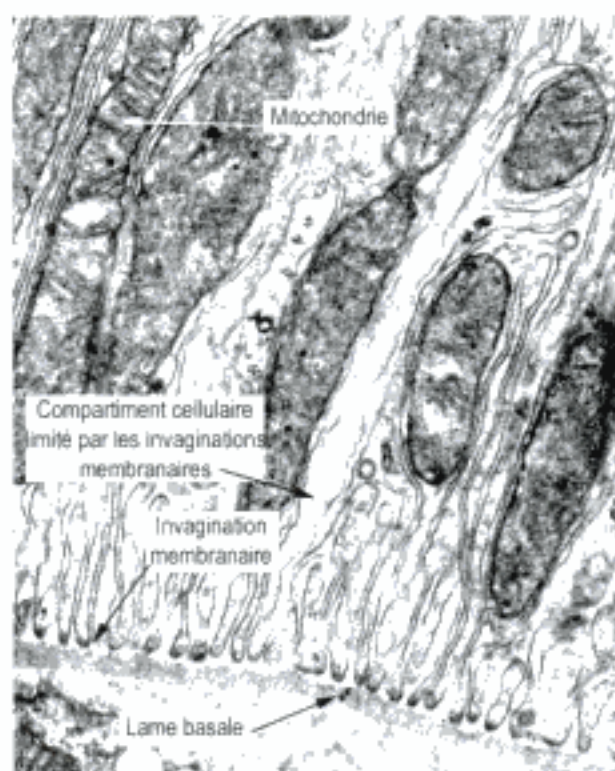


Fig. 5.4

Invaginations de la membrane plasmique basale d'une cellule rénale (tube contourné proximal).

Ces replis sont encore beaucoup plus développés chez les oiseaux marins, par exemple les mouettes, qui possèdent des glandes nasales capables d'assurer une élimination extrarénale de chlorure de sodium : ces animaux peuvent absorber de l'eau de mer et excréter, grâce à ces différenciations, l'excès de sodium de leur plasma.

La longueur et la complexité de ces replis dépendent de l'importance des échanges.

C. Jonctions et engrènements des faces latérales

1. Cohésion

La cohésion des faces latérales est assurée par des jonctions et des engrènements. Voir chapitre 8, p. 142 (fig. 5.5).

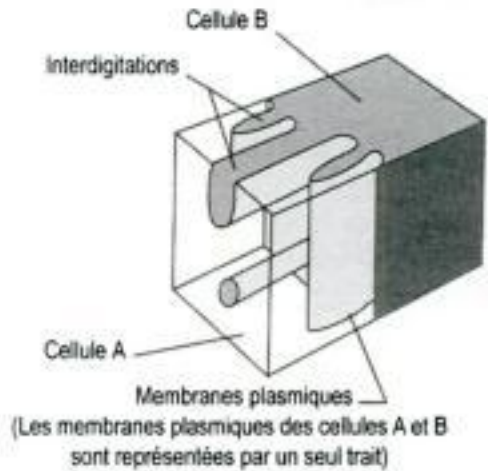


Fig. 5.5

Interdigitations permettant à deux cellules voisines A et B de s'engrener l'une dans l'autre.

Les membranes cellulaires qui s'affrontent sont souvent rectilignes : cependant, par place, elles suivent un contour sinueux (interdigitation), de telle sorte que deux cellules voisines s'engrènent. Ces engrènements augmentent la surface de contact entre deux cellules et, de ce fait, leur adhérence l'une avec l'autre, puisque les membranes portent des molécules d'adhérence en relation avec les éléments du cytosquelette. Il s'agit d'un système d'adhérence très labile.

2. Réserve membranaire

Les engrènements constituent une réserve de membrane plasmique. Cette réserve est utilisable en cas d'expansion de la cavité que les cellules limitent (épithélium vésical). L'accroissement de la surface membranaire, au niveau des engrènements, facilite aussi le transport des matériaux vers ou à partir de la cellule.

Dans certains épithéliums, comme celui du col ou du vagin, les digitations donnent des images extrêmement complexes : les espaces compris entre les cellules se comportent comme des canalicules, fonctionnellement très importants dans la nutrition et le métabolisme de l'épithélium.

POINTS CLÉS

- Les différenciations membranaires dépendent de la spécialisation cellulaire. Les cellules qui jouent un rôle important dans l'absorption différencient des microvillosités comme les entérocytes (absorption de nutriments) ou les cellules rénales (résorption des molécules qui ne doivent pas être éliminées par l'urine).
- Les cellules qui constituent des tissus de revêtement sont particulièrement riches en jonctions intercellulaires ; de plus, ces cellules possèdent de nombreuses différenciations de leur membrane plasmique qui peuvent être classées en différenciations augmentant les surfaces d'échange (microvillosités intestinales, bordure en brosse, invaginations ou replis de la membrane plasmique basale), en différenciations responsables de l'adhérence des cellules entre elles ou avec les lames basales et la matrice extracellulaire.
- Enfin les cellules rénales qui récupèrent les ions sodium possèdent une membrane plasmique basale très riche en replis associés à des mitochondries.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Les spécialisations de la membrane plasmique

- ☐ **A.** Toutes les microvillosités ont un diamètre constant.
- ☐ **B.** Les microvillosités de type groupé ont pour fonction d'augmenter la surface de la membrane.
- ☐ **C.** Les microvillosités de type groupé ont pour fonction de constituer une réserve de membrane.
- ☐ **D.** Les entérocytes en plus des microvillosités du pôle apical possèdent des replis membranaires au pôle basal.
- ☐ **E.** Les replis membranaires des pôles basaux sont proches de mitochondries.

2. Les stéréocils

- ☐ **A.** Ils sont constitués d'un axonème de tubuline.
- ☐ **B.** Ils participent à la mobilité de la cellule.
- ☐ **C.** Ils sont porteurs de canaux ioniques à ouverture mécanique.
- ☐ **D.** Ce sont des cils indépendants les uns des autres.
- ☐ **E.** Les stéréocils d'une même cellule ont des longueurs différentes.

Pour les corrections, se reporter à la page 577

La membrane plasmique et les échanges d'informations

- I. Les molécules de signalisation intercellulaire
- II. Les divers modes de communication intercellulaire
- III. Les récepteurs de la membrane plasmique

Les cellules contiennent, dans leur membrane plasmique, de très nombreux récepteurs qui déterminent les réactions de la cellule comme l'entrée et la sortie de diverses molécules.

Les cellules réagissent à toute une variété de molécules de signalisation intercellulaire ou messagers chimiques (hormone, facteur de croissance, etc.), susceptibles d'agir sur le métabolisme, les synthèses, la sécrétion, la prolifération, la mort cellulaire etc. Les messagers possèdent généralement une structure complémentaire des récepteurs. C'est leur fixation sur le récepteur qui déclenche une cascade de réactions capable de modifier le comportement cellulaire.

I. Les molécules de signalisation intercellulaire

A. Définition

Les molécules de signalisation sont des *ligands* qui transmettent des signaux à une cellule en se fixant soit sur des récepteurs de la membrane plasmique, soit sur des récepteurs intracellulaires (dans ce cas, ils diffusent à travers la membrane plasmique). La fixation de ces ligands sur un récepteur activateur (ou inhibiteur) déclenche une cascade de réactions biochimiques contrôlant et régulant le comportement des cellules qui reçoivent l'information.

B. Caractères des molécules de signalisation

Ces ligands sont extrêmement nombreux : ils comprennent tout un ensemble de *molécules informatives* qui vont des gaz (par ex. l'oxyde nitrique : NO) aux protéines en passant par les lipides. Il existe, en fonction de leur capacité à diffuser à travers la membrane plasmique, deux grands groupes de molécules de signalisation : les ligands à récepteurs membranaires (*molécules informatives hydrophiles*) et les ligands à récepteurs intracellulaires (*molécules informatives hydrophobes*).

C. Molécules informatives hydrophiles

1. Reconnaissance, activation du récepteur et transduction

L'imperméabilité de la membrane plasmique aux molécules informatives hydrophiles entraîne la mise en œuvre d'un processus qui comprend la reconnaissance du ligand et la transduction (fig. 6.1).

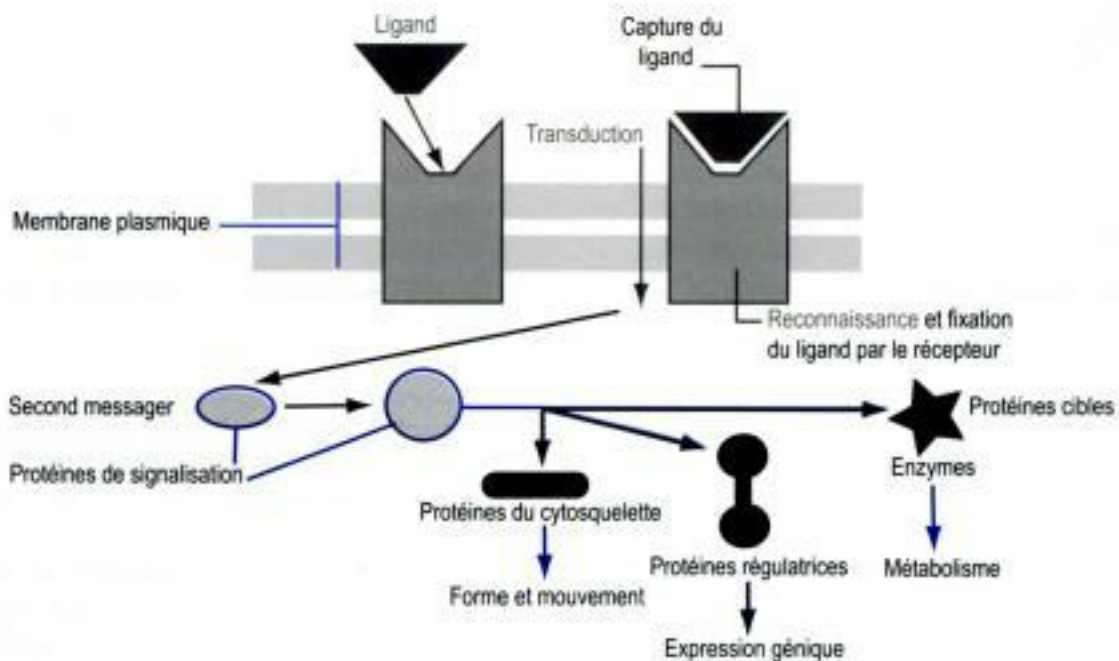


Fig. 6.1

Voie intracellulaire de signalisation.

La reconnaissance d'une molécule informative (ligand) par un récepteur membranaire déclenche dans la cellule une série d'interactions protéiques (protéines de signalisation). Cette série d'interactions porte le nom de voie de signalisation et active une cellule cible qui induit la réponse cellulaire.

La molécule est reconnue par le récepteur qui possède un *site de fixation* dont la forme est *complémentaire* de celle de la *molécule informative*. La fixation provoque l'*activation* du récepteur. La *transduction* est un mécanisme de transfert d'informations, contenues par une molécule, à travers une membrane infranchissable par cette molécule. La transduction assure donc le passage du signal extracellulaire à travers la membrane plasmique (sans passage de la molécule qui transporte le signal) afin d'activer les voies biochimiques intracellulaires qui produisent une réponse de la cellule stimulée. La transmission de l'information est assurée par un *second messenger*, produit par le récepteur activé, qui déclenche la réponse biologique.

2. Neurotransmetteurs

a. Définition

Les neurotransmetteurs sont des molécules (acétylcholine, noradrénaline, sérotonine, dopamine, acide γ aminobutyrique, glycine, glutamate) qui assurent la *transmission de l'influx nerveux*, d'un neurone à un autre ou d'un neurone à une cellule non nerveuse, à travers la fente synaptique.

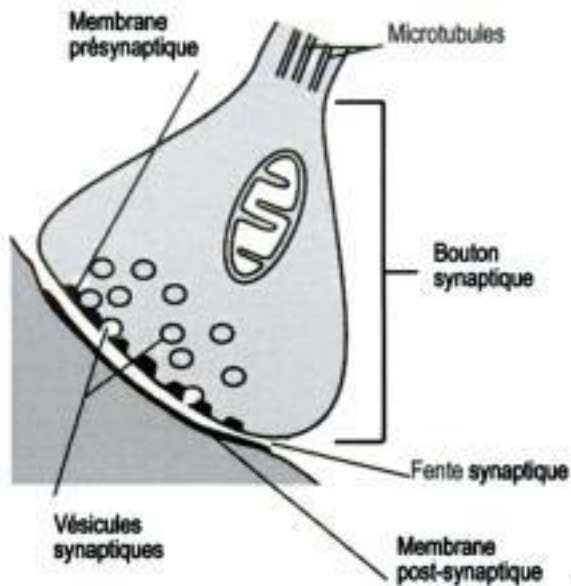


Fig. 6.2
Bouton terminal.

b. Mécanisme d'action

Les vésicules présynaptiques de la terminaison nerveuse, par exemple un bouton synaptique (fig. 6.2), stockent le neurotransmetteur qu'elles libèrent dans la fente présynaptique au moment de l'arrivée du potentiel d'action.

Tous les neurotransmetteurs sont des molécules hydrophiles qui ne traversent pas la membrane plasmique postsynaptique. Ils sont libérés par exocytose à partir d'une terminaison d'un axone (un bouton terminal ou une plaque motrice). Le neurotransmetteur stimule la membrane post-synaptique en se fixant sur des récepteurs membranaires spécifiques : par exemple, l'acétylcholine qui est libérée par les terminaisons nerveuses motrices (plaques motrices) se fixe sur un récepteur qui est un canal sodique. La fixation de l'acétylcholine ouvre ce canal (fig. 6.3), les ions Na^+ pénètrent dans le cytoplasme de la fibre musculaire striée provoquant une dépolarisation de la membrane (sarcolemme).

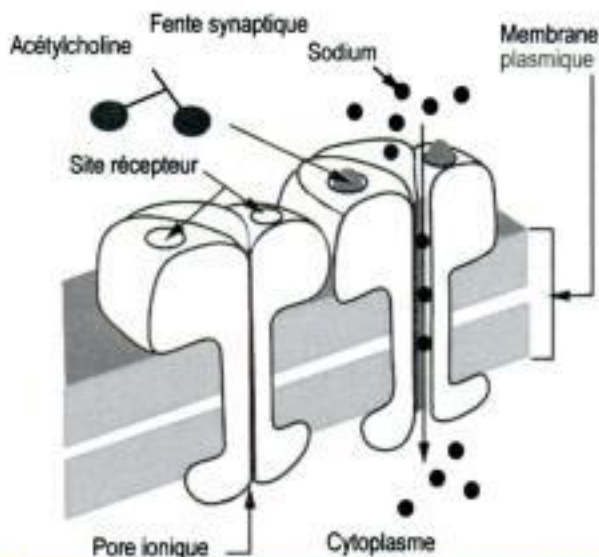


Fig. 6.3
Membrane postsynaptique et récepteurs de l'acétylcholine.

3. Hormones peptidiques

a. Définition

Les hormones peptidiques sont des molécules constituées par une chaîne polypeptidique d'un peu plus d'une centaine d'acides aminés. Elles regroupent les hormones hypophysaires (corticotrophine, somatotrophine, hormone lutéotrope, hormone mélanotrope, vasopressine, ocytocine), les hormones pancréatiques (insuline et glucagon), les hormones parathyroïdiennes (parathormone et thyrocalcitonine), les hormones digestives (gastrine, sécrétine), les neuropeptides, etc.

b. Mécanisme d'action

Ces ligands sont incapables de traverser la membrane plasmique : ils se fixent à des récepteurs de la membrane plasmique (voir « Les récepteurs membranaires »).

D. Molécules informatives hydrophobes

1. Diffusion transmembranaire des molécules informatives hydrophobes

Les molécules informatives hydrophobes – qui regroupent les hormones stéroïdiennes, les hormones thyroïdiennes, l'oxyde nitrique, les eicosanoïdes, les rétinoïdes et la vitamine D – sont liposolubles : elles peuvent donc franchir facilement la membrane plasmique par *diffusion* et se fixer sur les récepteurs intracellulaires qui régulent la transcription de l'ADN. Malgré leur différence structurale, leur mécanisme d'action est identique.

2. Hormones stéroïdiennes

a. Définition

Les hormones stéroïdiennes ou stéroïdes constituent une classe d'hormones non polaires : elles dérivent du cholestérol. Les stéroïdes regroupent les hormones sexuelles (œstrogènes, la folliculine, la progestérone, la testostérone) et les hormones corticosurréaliennes (cortisone et aldostérone).

b. Mécanisme d'action

Ces hormones stéroïdes, liposolubles, traversent la membrane plasmique et agissent en se liant à leurs récepteurs situés dans le cytoplasme (fig. 6.4). Ces molécules réceptrices appartiennent à la superfamille des récepteurs stéroïdiens. Elles possèdent des domaines de fixation à des facteurs protéiques activateurs ou inhibiteurs de la transcription.

Les récepteurs des glucocorticoïdes ou des œstrogènes, en l'absence d'hormone, ne peuvent pas se lier à l'ADN. En effet, la fixation de l'hormone sur le récepteur induit une modification conformationnelle qui permet au récepteur de se lier aux séquences d'ADN et d'activer la transcription des gènes cibles.

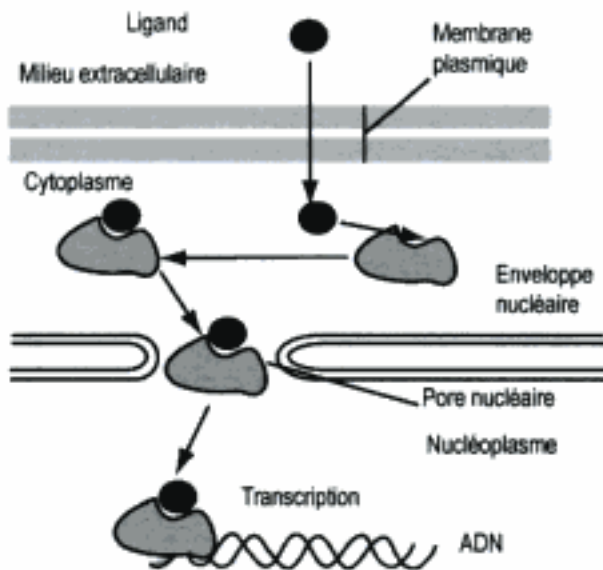


Fig. 6.4
Récepteur des stéroïdes.

3. Hormones thyroïdiennes

Les effets de la liaison du ligand diffèrent en fonction de la nature des récepteurs. Ainsi, le *récepteur de la thyroxine* (hormone non stéroïdienne) agit comme un *répresseur* en l'absence d'hormone ; mais la liaison de la thyroxine le convertit en un activateur qui stimule la transcription des gènes de l'hormone thyroïdienne : la liaison ou l'absence de liaison entre l'hormone et le récepteur n'empêche pas le récepteur de se lier à l'ADN, mais modifie son activité.

4. Oxyde nitrique

a. Définition

L'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote est un gaz instable, d'une demi-vie de quelques secondes, qui intervient comme molécule de signalisation paracrine des systèmes nerveux, circulatoire et immunitaire en modifiant l'activité des enzymes cibles intracellulaires.

b. Mécanisme d'action

NO se forme par action de l'*oxyde nitrique synthase* sur l'arginine. Il diffuse à travers la membrane plasmique de la cellule où il s'est formé et agit localement sur les cellules voisines. Par exemple, NO est responsable de la vasodilatation (dilatation des vaisseaux sanguins). Dans la paroi des vaisseaux, les *fibres nerveuses cholinergiques* libèrent de l'*acétylcholine*. Le neurotransmetteur stimule la synthèse de NO dans les cellules endothéliales. NO diffuse dans les cellules musculaires lisses voisines où il augmente l'activité de la guanylyl cyclase en réagissant avec le fer lié à son site actif. Cette augmentation de l'activité enzymatique de la guanylyl cyclase aboutit à la synthèse du second messager GMPc qui provoque la relaxation des cellules musculaires et la dilatation de vaisseau sanguin.

5. Eicosanoïdes

a. Définition

Les eicosanoïdes sont des molécules informatives synthétisées continuellement, à partir de l'acide arachidonique, par la membrane plasmique des cellules des mammifères. Ils regroupent les *leucotriènes*, les *prostacyclines*, les *prostaglandines*, les *thromboxanes*.

b. Mécanisme d'action

Il est intéressant de souligner que ces ligands sont des lipides et que contrairement aux hormones stéroïdiennes, ils agissent en se liant aux récepteurs situés dans la membrane plasmique. Les eicosanoïdes, détruits rapidement, ne peuvent agir que localement (autocrinie ou paracrinie). Les eicosanoïdes libérés à partir d'une cellule activent les récepteurs des cellules voisines (appartenant à un même type) qui interagissent les unes avec les autres au cours d'un mécanisme de répliques (*cross-talk phenomenon*).

c. Fonctions

Les eicosanoïdes interviennent dans des processus physiologiques (contraction des cellules musculaires lisses, agrégation des plaquettes) et dans des processus pathologiques (douleur, fièvre, inflammation).

d. Application médicale

La prostaglandine synthase catalyse la synthèse de la prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme l'aspirine bloquent l'activité de la prostaglandine synthase et donc la synthèse de prostaglandine. C'est ce blocage de la synthèse qui diminue l'inflammation et possède une activité antalgique.

II. Les divers modes de communication intercellulaire (fig. 6.5)

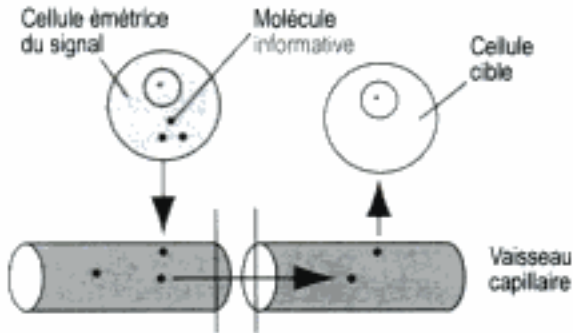
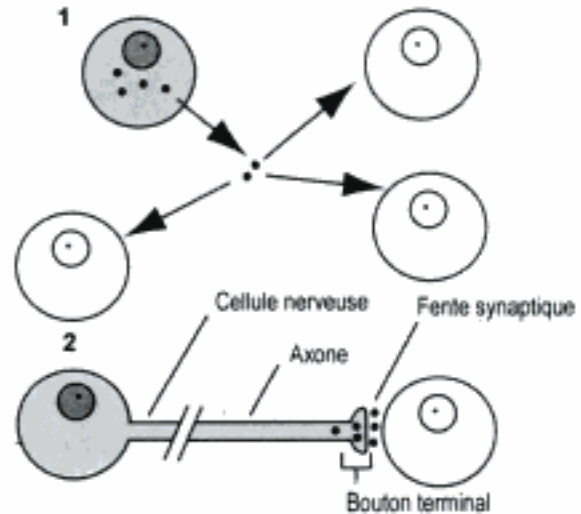
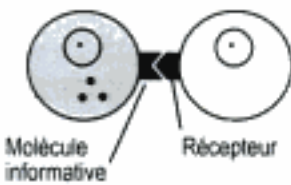
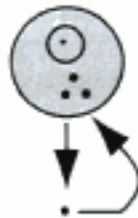
Les cellules échangent des informations en émettant des *molécules dites informatives* qui sont reçues par des récepteurs situés dans la membrane plasmique ou dans la cellule. La fixation de la molécule informative déclenche la transduction de l'information vers les effecteurs intracellulaires qui permettent l'exécution du message.

A. Signalisation endocrine

La cellule « émettrice » de l'information, distante de la cellule « réceptrice », émet un signal dont la transmission se fait par l'intermédiaire d'une hormone acheminée par le système circulatoire (fig. 6.5A).

B. Signalisation paracrine

La cellule « réceptrice », voisine de la cellule « émettrice », reçoit le signal émis par cette dernière (voir 1. fig. 6.5B).

A Transmission endocrine du signal**B Transmission paracrine****C Transmission contact-dépendante****D Transmission autocrine****Fig. 6.5**

Les divers modes de communication intercellulaire.

A. Transmission d'une information par voie sanguine (par exemple une hormone).

B. 1. Entre cellules voisines, par l'intermédiaire de molécules informatives, libérées dans l'espace intercellulaire, qui agissent sur les cellules voisines. 2. Par voie nerveuse (appelée aussi signalisation synaptique), entre deux cellules nerveuses ou entre une cellule nerveuse et une cellule n'appartenant pas au système nerveux, par exemple une cellule glandulaire (transmission synaptique électrique ou chimique).

C. Transmission contact-dépendante : une cellule possède un ligand qui se fixe directement sur le site récepteur d'une autre cellule.

D. Transmission autocrine : le signal est reçu par la cellule émettrice.

C. Signalisation synaptique

Ce type de signalisation (appelée aussi signalisation paracrine) intéresse les cellules nerveuses (neurones) qui transportent des signaux le long de leur axone et libèrent, à leur extrémité, le contenu de vésicules synaptiques dans l'étroit espace (fente synaptique) qui sépare la terminaison axonale de la cellule cible.

D. Signalisation contact-dépendante

Dans ce type de signalisation, les molécules de signalisation demeurent fixées à la surface de la membrane plasmique. La cellule porteuse de l'information entre en contact avec la cellule cible et transmet son information lorsque les molécules porteuses de l'information sont reconnues et fixées par les récepteurs de la cellule cible. Ce type de signalisation s'observe au cours du développement embryonnaire et dans les réponses immunitaires.

E. Signalisation autocrine

Dans la majorité des modes de signalisation étudiés précédemment, la cellule émettrice du signal et la cellule cible ou réceptrice n'appartiennent pas au même type. Mais les cellules peuvent envoyer des *signaux à elles-*

mêmes ou à d'autres cellules du même type (quelques auteurs classent cette signalisation dans la paracrinie).

L'autocrinie peut se faire de deux manières :

- par l'intermédiaire de *jonctions communicantes* (*gap junctions*) : les cellules associées par des *gap-junctions* répondent à des signaux extracellulaires, grâce à la circulation entre les cellules de petites molécules de signalisation intracellulaire qui passent par des ouvertures (les connexons) constituées par des molécules de connexine. Cette circulation de l'information est essentielle : par exemple, l'absence de la connexine 43 chez l'homme est à l'origine de graves malformations cardiaques ;
- par *sécrétion de molécules informatives* : les cellules en cours de différenciation excrètent, dans le milieu intercellulaire, des molécules susceptibles de renforcer cette différenciation, en se fixant sur ses propres récepteurs ou sur les récepteurs des cellules voisines du même type. Cette transmission autocrine existe aussi chez l'adulte. Ces signaux sont des médiateurs chimiques locaux qui comprennent l'histamine, la sérotonine (sécrétées par les mastocytes), des facteurs de croissance, les eicosanoïdes.

Si la signalisation autocrine, dans des conditions physiologiques normales, ne présente que des avantages, il n'en demeure pas moins que, dans un certain nombre de situations pathologiques, une telle signalisation est catastrophique : ainsi, les cellules cancéreuses échappent au contrôle de la prolifération cellulaire et peuvent, grâce à leur propre sécrétion, non seulement assurer leur survie, mais aussi proliférer en vivant dans un environnement ou dans des conditions où les cellules normales du même type ne le pourraient pas.

III. Les récepteurs de la membrane plasmique

A. Classification

Les récepteurs membranaires sont classés en fonction de leur nature et de leur organisation : par exemple, les récepteurs couplés aux protéines G (GPCR : *G Protein-Coupled Receptor*), les récepteurs-enzymes (guanylyl-cyclase, tyrosine kinases, sérine/thréonine kinases), les récepteurs canaux, les récepteurs des cytokines, etc.).

B. Famille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR)

1. Définition

Les récepteurs couplés aux protéines G sont des molécules qui appartiennent à la famille des protéines homologues à sept domaines transmembranaires. Ce sont des récepteurs qui contrôlent, par l'intermédiaire de la protéine G (protéine trimérique de liaison au GTP), l'activité soit d'une enzyme intrinsèque, soit d'un canal ionique de la membrane plasmique.

2. Subdivision de la famille GPCR

Les GPCR se classent en trois groupes :

- le *groupe I* comprend la majorité des GPCR, localisés dans la membrane plasmique des cellules olfactives, des cellules visuelles, cônes et bâton-

nets (la rhodopsine), les récepteurs adrénergiques, les récepteurs de nombreux peptides ;

- le *groupe II* comprend des récepteurs d'hormones peptidiques (sécrétine, hormone parathyroïdienne, le PACAP [*Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide* ; polypeptide activant l'adénylate cyclase pituitaire]) ;
- le *groupe III* comprend des récepteurs du glutamate et un récepteur sensible à la concentration du Ca^{++} plasmatique et urinaire.

3. Mécanisme d'action

Schématiquement, tous les GPCR agissent selon le même schéma. La *fixation* d'un ligand (décrit comme premier messager) sur le récepteur provoque l'activation d'un *transducteur*, une protéine G (protéine trimérique de liaison au GTP), qui transduit le signal à un *effecteur*, lequel peut être soit une enzyme comme l'*adénylcyclase*, soit un *canal ionique*. Ainsi, les récepteurs couplés aux protéines G règlent l'activité d'une autre protéine cible de la membrane plasmique.

À l'état inactif, les protéines G hétérotrimériques sont situées dans le cytoplasme sous-membranaire. Elles se composent de trois sous-unités différentes (α , β , γ). La sous-unité α ($G\alpha$) est associée au GDP (guanosine diphosphate) (fig. 6.6A).

L'activation du récepteur stimule la libération du GDP qui est remplacé par GTP (fig. 6.6B). Le complexe, formé par le récepteur, le complexe $\beta\gamma$ et la sous-unité $G\alpha$ -GTP, se dissocie. $G\alpha$ -GTP libérée s'associe à l'adénylcyclase (ou un canal ionique) et l'active (fig. 6.6C). L'activation de l'adénylcyclase déclenche la production d'un second messager, l'AMPc (adénosine 3'-5' monophosphate cyclique), qui provoque une cascade de réactions enzymatiques parmi lesquelles l'activation de la PKA (protéine kinase A). L'activation du *canal ionique* modifie la *perméabilité aux ions* de la membrane plasmique.

L'hydrolyse du GTP en GDP interrompt l'interaction $G\alpha$ -GTP/effecteur. $G\alpha$ -GDP s'associe alors à la sous-unité $\beta\gamma$ et met fin à l'association de $\beta\gamma$ avec son propre effecteur. La forme inactive, trimérique, est reconstituée (fig. 6.6D).

4. Fonctions

Ces récepteurs couplés aux protéines G assurent la reconnaissance de signaux provenant de notre environnement (saveurs amères, sucrées ou salées, lumière, odeurs). Les GPCR reconnaissent donc des signaux ou messages très variés (photons, ions, molécules odoriférantes, acides aminés et dérivés, nucléotides, nucléosides, lipides, peptides et protéines). Les GPCR constituent la famille la plus nombreuse. Plus de mille gènes codent ces récepteurs (0,1 % du génome).

C. Récepteurs-enzymes

1. Définition

Les récepteurs-enzymes sont des récepteurs qui, lorsqu'ils sont activés par la fixation d'un ligand, par exemple un facteur de croissance PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor* ; facteur de croissance dérivé des

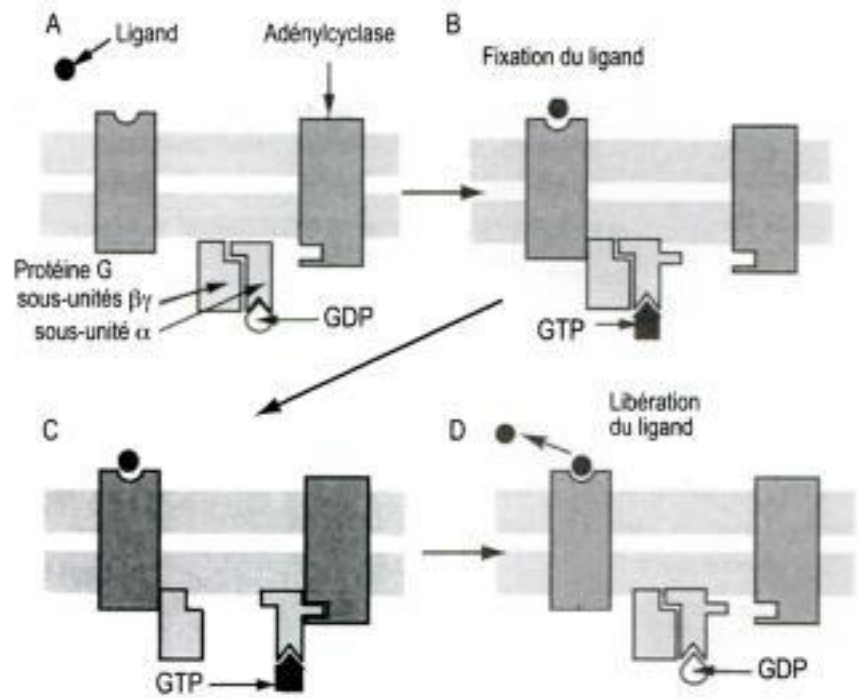


Fig. 6.6

Phase membranaire de l'activation d'un récepteur (voie adénylcyclase AMPc).

plaquettes), NGF (*Nerve Growth Factor* ; facteur de croissance nerveux) ou l'insuline développent une *activité enzymatique*.

2. Récepteurs à activité tyrosine kinase (ou TKR)

Les TKR représentent la famille la plus importante des récepteurs liés aux enzymes. Ils interviennent principalement dans le contrôle de la croissance et de la différenciation des cellules. Actuellement, plus de 50 récepteurs, à activité tyrosine kinase, sont identifiés, y compris les récepteurs de l'insuline de EGF, NGF, PDGF et de beaucoup d'autres facteurs de croissance.

a. Structure et activité enzymatique

Chaque monomère de TKR possède un seul segment intramembranaire sous la forme d'une hélice α alors que les récepteurs couplés aux protéines G possèdent 7 hélices transmembranaires. Ils sont dotés d'une extrémité *extracellulaire réceptrice* du ligand et une extrémité intracellulaire ayant une *activité catalytique*. Certains de ces récepteurs agissent comme des enzymes (le récepteur est lui-même une protéine kinase), d'autres sont couplés à des enzymes, à des protéines kinases. En fonction de la nature de l'activité enzymatique, on distingue les récepteurs à activité *tyrosine kinase*, *sérine/thréonine kinase*, *guanylate-cyclase*, etc.

b. Activation des TKR

Les TKR sont, généralement, des *monomères* lorsqu'ils ne sont pas activés (fig. 6.7).

La fixation d'un ligand déclenche des interactions et une cascade de réactions dont le composant clé est la *protéine Ras* (*Rat sarcoma* ; sarcome du rat) (voir encadré, p. 128).

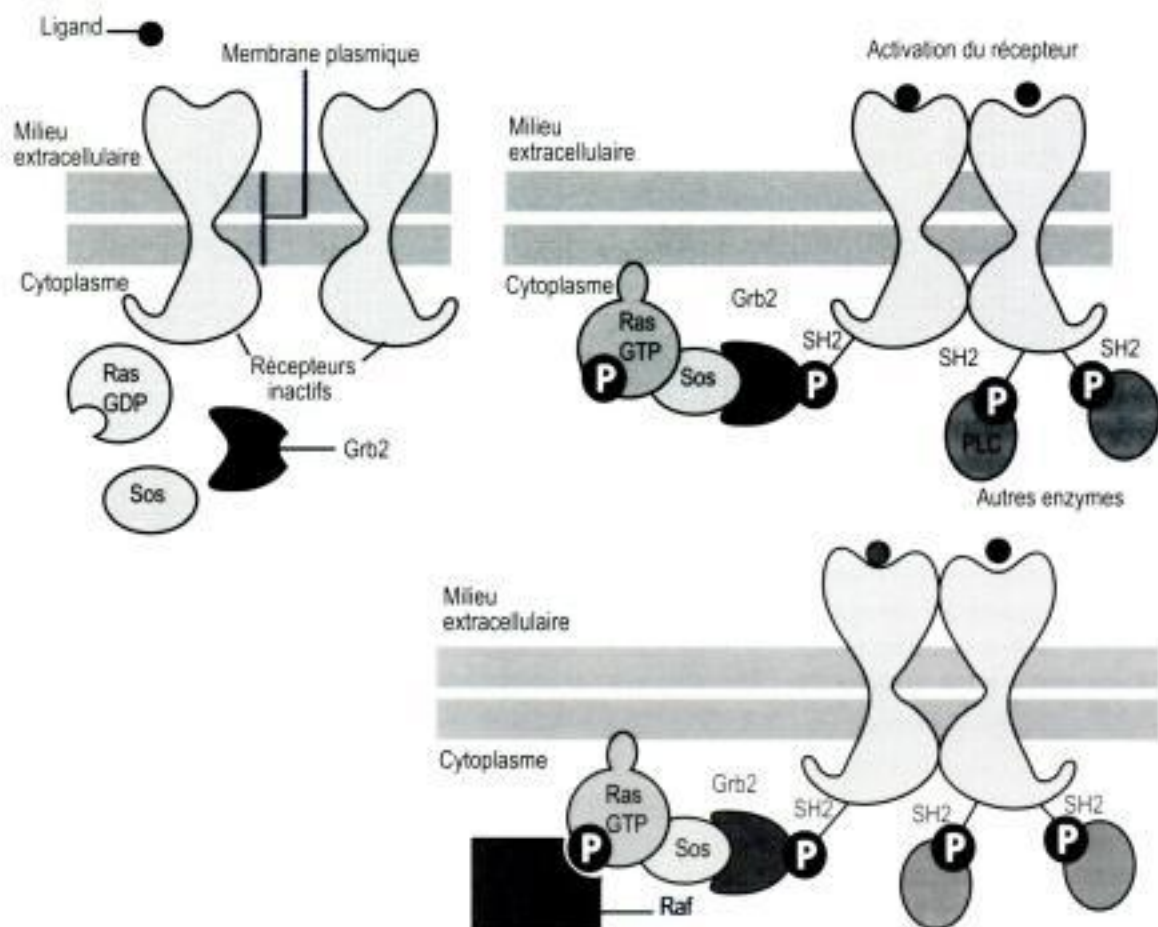


Fig. 6.7

Activation des TKR.

La dimérisation du récepteur et la phosphorylation de ses domaines cytoplasmiques, contenant de la tyrosine, sont induites par fixation du ligand. *SH2* représente les domaines porteurs de sites de liaison situés sur les protéines, en aval du récepteur, qui transmettent les signaux. *Grb2-Sos* (*Son of sevenless*) se lie aux tyrosines phosphorylées du dimère et induit la phosphorylation de *Ras-GDP*. *Raf* peut alors se lier à *Ras* et déclencher une série de réactions dénommée « cascade de la MAP-kinase » (*Mitogene Activated Protein kinase* ; protéine kinase mitogène activée). D'après T. D. Pollard.

► Dimérisation du récepteur et autophosphorylation des tyrosines

L'activation du récepteur par la fixation du ligand (par exemple des facteurs de croissance) sur le domaine extracellulaire déclenche la *dimérisation du récepteur* et l'autophosphorylation des tyrosines situées dans sa partie cytoplasmique. Mais cette phosphorylation intéresse également des protéines cibles intracellulaires qui propagent le signal induit par la liaison du ligand.

► Phosphorylation des résidus tyrosine

Elle crée des *sites de liaison* spécifiques pour les protéines complémentaires qui transmettent des signaux intracellulaires en aval des récepteurs activés. L'association de ces protéines avec des récepteurs autophosphorylés est la première étape dans la transmission intracellulaire de *signaux* induits par la liaison de facteurs de croissance au récepteur.

Les *sites de liaison* les mieux connus sont appelés *domaines SH2* (*Src-Homology domain 2* ; domaine homologue à *Src* [*Sarcoma Rous virus*]),

ainsi dénommés car ils furent étudiés pour la première fois sur des récepteurs à activité tyrosine kinase liés à Src (protéine oncogène de virus de sarcome de Rous). Les domaines SH2 comprennent environ une centaine d'acides aminés et se lient à des séquences peptidiques courtes contenant des résidus de phosphotyrosine.

c. Activation de la cascade de la MAP-kinase par Ras

► Définition

Les *MAP-kinases* sont des protéines enzymatiques qui catalysent la phosphorylation des protéines MAP (*Mitogene Activated Protein* ; protéine mitogène activée).

■ Le domaine SH2 de fixation de la phosphotyrosine fut identifié pour la première fois dans la protéine codée par l'oncogène Src.

► Rôle de la cascade des MAP-kinases

L'activation des TKR est brève : en effet, des protéines phosphatases déphosphorylent les TKR et les GAP (*GTPase Activating Protein*) inactivent Ras très rapidement. Or, la stimulation de la prolifération ou de la différenciation cellulaire ne peut se produire que si la durée des signaux est suffisamment longue pour atteindre le noyau et agir sur l'expression génique. À cette fin, l'activation de Ras déclenche une *cascade de phosphorylations* sérine/thréonine d'une durée plus longue que la phosphorylation des tyrosines. La cascade de phosphorylation dépend de très nombreuses sérine/thréonine kinases dont trois constituent un module central. La dernière de ce module est appelée la *protéine kinase activée par les mitogènes* MAP-kinases.

► Mécanisme d'activation des MAP-kinases

Les *MAP-kinases* sont activées par la phosphorylation d'une thréonine et d'une tyrosine séparées par un seul acide aminé.

Ras activé active une voie qui commence par Raf (MAP-kinase-kinase-kinase). Raf active alors Mek (MAP-kinase/Erk-kinase) qui à son tour active Erk (*Extra cellular signal-regulated kinase* ; kinase régulée par un signal extracellulaire). Erk pénètre dans le noyau et phosphoryle des protéines régulatrices des gènes.

d. Fonctions des TKR

Les fonctions sont résumées dans le tableau 6.1.

e. Exemple : récepteur de l'insuline

Le récepteur de l'insuline est un *récepteur tyrosine kinase*. C'est une protéine enzymatique, une *protéine tyrosine kinase*, sur laquelle se fixe l'insuline : cette enzyme a pour fonction de phosphoryler des résidus tyrosine spécifiques appartenant à d'autres protéines (fig. 6.8).

► Structure

Le récepteur de l'insuline est un *dimère stable*, formé par deux chaînes polypeptidiques α qui contiennent les sites récepteurs de l'insuline et deux chaînes β qui traversent la membrane plasmique.

Tableau 6.1. Récepteurs à activité tyrosine kinase.

Ligand	Fonctions
Facteur de croissance épidermique (EGF)	Division et différenciation des cellules épithéliales
Facteur de croissance α des fibroblastes (FGF α)	Différenciation mésodermique ; mitogenèse fibroblastique
Facteur de croissance β des fibroblastes (FGF β)	Mitogenèse fibroblastique
Facteur de croissance des hépatocytes (HGF)	Mitogenèse. Motilité des cellules épithéliales
Facteur de croissance transformant α (TGF α)	Différenciation du tissu conjonctif
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires (VEGF)	Croissance des cellules endothéliales
Neurotrophines (croissance du tissu nerveux)	Croissance et survie neuronale
Facteur de croissance hématopoïétique M-CSF	Croissance et différenciation des monocytes
Insuline	Capture du glucose. Croissance cellulaire
Sométidine	Croissance générale de l'organisme

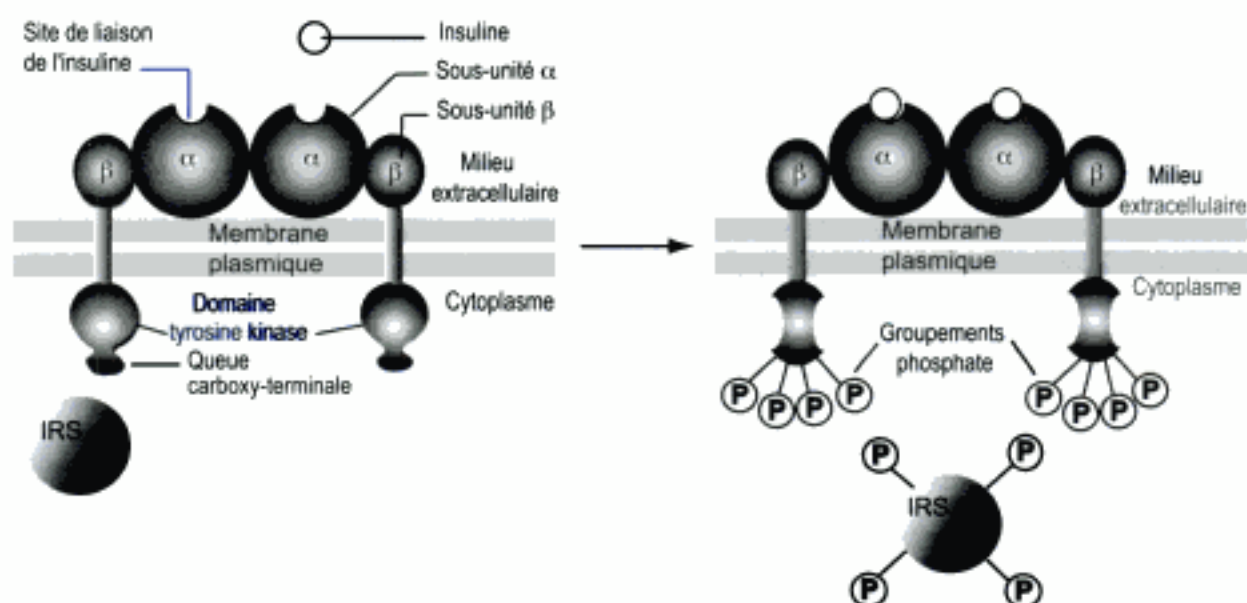


Fig. 6.8

Récepteur de l'insuline.

Ce récepteur est un tétramère. L'insuline, en se fixant sur la sous-unité α , provoque une modification conformationnelle de la sous-unité β . Cette modification de forme induit la phosphorylation des résidus phosphate sur les résidus tyrosine de récepteur et d'IRS (*Insulin Receptor Substrate*). D'après T. D. Pollard.

► Mécanisme d'action

La sécrétion d'insuline par les cellules des îlots de Langerhans pancréatiques est déclenchée par une augmentation de la glycémie. De nombreuses cellules et, en particulier, les hépatocytes, les adipocytes et les cellules musculaires, possèdent des récepteurs de l'insuline.

L'insuline se fixe sur les récepteurs : cette fixation *déclenche l'activité tyrosine kinase* des sous-unités β qui transmettent le signal jusqu'à la face interne de la membrane. Le récepteur TKR activé assure d'abord la phosphorylation des domaines kinases cytosoliques de ses sous-unités β . Ses

domaines kinases phosphorylent ensuite l'*IRS-1* sur de multiples tyrosines. Les IRS sont des *protéines d'arrimage* situées au voisinage de l'extrémité cytosolique des récepteurs TKR et des substrats du récepteur d'insuline. La phosphorylation des IRS intéresse les tyrosines appartenant à séquences spécifiques d'acides aminés décrites sous le nom de « motifs de phosphotyrosine ».

Ces motifs de phosphotyrosine provoquent la *fixation* et l'*activation* de protéines effectrices (*effecteurs*) situées en aval. Les effecteurs sont des protéines qui possèdent un ou plusieurs domaines SH2 ayant une forte affinité pour les motifs de phosphotyrosine. Ces effecteurs s'associent à IRS dès qu'il est phosphorylé.

Dans le cas du récepteur de l'insuline, ces effecteurs interviennent pour assurer deux fonctions essentielles de l'insuline :

- la captation des molécules de glucose : GLUT4 est un transporteur de la membrane plasmique qui intervient dans la captation du glucose. GLUT4 est stocké dans la membrane de vésicules cytoplasmiques. La fixation de l'insuline sur son récepteur déclenche la fusion des membranes vésiculaires avec la membrane plasmique de telle sorte que les molécules de GLUT4 sont incorporées dans la membrane plasmique. La fixation de l'insuline sur son ligand déclenche également la conversion du glucose en glycogène, sa forme de stockage ;
- la stimulation de la croissance et de la prolifération cellulaire : l'insuline est un facteur de croissance pour certaines cellules. Cette stimulation emprunte la *voie Ras/MAP-kinases* vers les facteurs de transcription nucléaires. Le circuit de signalisation vers Ras comporte deux voies agissant sur des échelles de temps différentes :
 - *La voie rapide* (quelques secondes) : la tyrosine de l'IRS est phosphorylée, puis *Grb₂* (*Growth factor receptor-bound protein 2* ; protéine liée à un récepteur de facteur de croissance) s'associe à une tyrosine phosphorylée de l'IRS et interagit avec *Sos*. *Sos* est un GEF (un facteur d'échange de la petite protéine G *Ras*). *Sos* se trouve donc transloqué à proximité de sa cible *Ras* qui est en effet ancrée en permanence à la membrane et l'active,
 - *La voie lente*, qui agit en quelques minutes, passe par la phosphorylation de SH2 qui lie de plus grandes quantités de *Grb2-Sos* et déclenche plus lentement une réponse soutenue de la voie des MAP-kinases. D'autres hormones, notamment le facteur de croissance de type insuline 1 (IGF-1) possèdent des récepteurs similaires et utilisent l'IRS 1 pour acheminer les signaux de croissance vers le noyau.

3. Récepteurs à activité sérine/thréonine kinase

a. Définition

Les *récepteurs sérine/thréonine kinase* sont des récepteurs activés par la fixation de ligands qui appartiennent à l'une des trois familles de facteurs de croissance polypeptidiques dimériques : le *TGF α* , l'*activine* (facteur de libération de l'hormone folliculo-stimulante hypophysaire), les *inhibines*, les *protéines morphogénétiques osseuses* (facteurs qui favorisent la différenciation des ostéoblastes responsables de la formation de la matrice osseuse).

b. Structure des récepteurs et des ligands

Les *récepteurs* sont constitués par deux sous-unités séparées, activées par la liaison du ligand et par transphosphorylation : ces sous-unités possèdent chacune un domaine récepteur extracellulaire, un seul domaine en hélice α transmembranaire et un *domaine cytosolique* ayant une *activité sérine/thréonine kinase*.

Les *ligands* de ces récepteurs sont des dimères : l'activité kinasique des deux sous-unités est indispensable à la transduction des signaux (fig. 6.9).

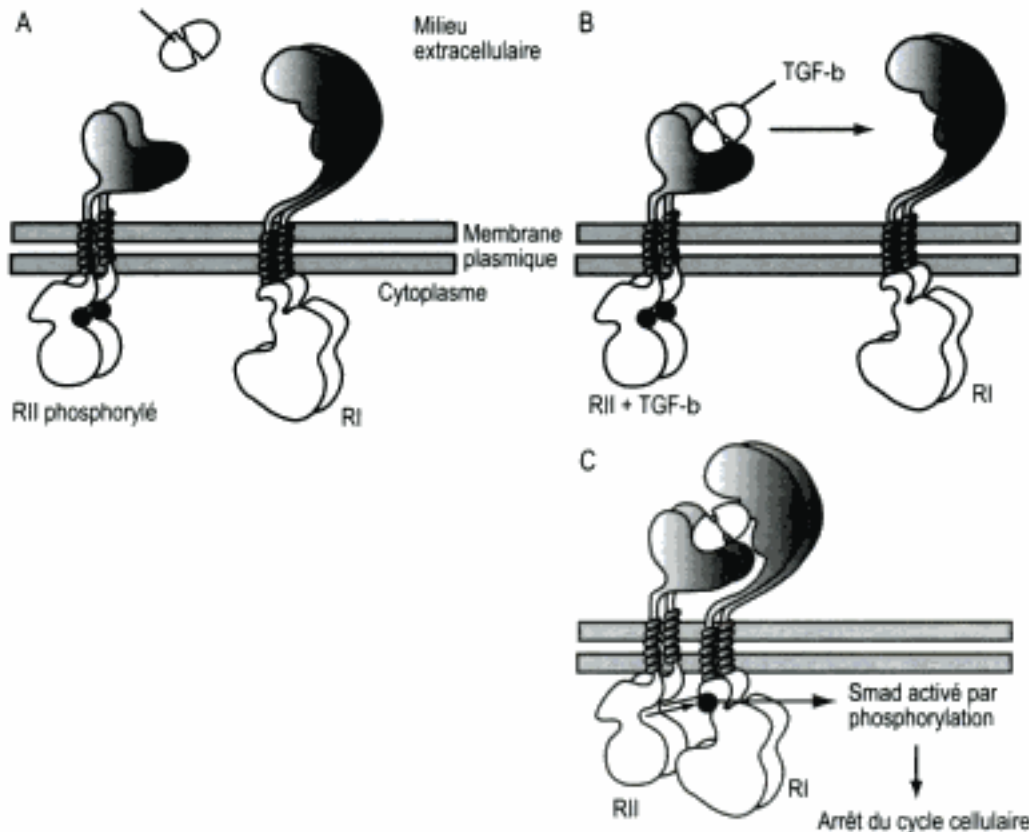


Fig. 6.9
Récepteur sérine/
thréonine kinase.
D'après T. D. Pollard.

c. Mécanisme de fonctionnement

Schématiquement, en l'absence de ligand, les récepteurs existent sous la forme de monomère (fig. 6.9). Le ligand se fixe d'abord sur RII dimérique : ce ligand se fixe ensuite sur RI dimérique inactif ce qui rapproche les récepteurs l'un de l'autre. Le récepteur RII active RI en phosphorylant son domaine cytosolique (fixation de phosphate sur les sérines et les thréonines). RI peut alors, à son tour, phosphoryler des protéines régulatrices, les Smad. Ces facteurs de transcription gagnent le noyau afin d'activer ou d'inhiber la transcription des gènes spécifiques.

4. Récepteurs membranaires à activité guanylate cyclase

a. Définition

Les *récepteurs membranaires* à activité guanylate cyclase (GC) sont des récepteurs activés par la fixation de peptide (guanyline, peptide natriurétique).

tique auriculaire ou facteur natriurétique atrical [ANF : *Atrial Natriuretic Factor*]).

b. Structure

Ces récepteurs sont des homodimères qui possèdent deux domaines cytosoliques : un domaine cytosolique probablement inactif indispensable pour que la liaison du ligand stimule l'activité de la guanylate cyclase du deuxième domaine (fig. 6.10).

c. Fonctions

La GC intervient dans les cellules pour reformer de la GMP cyclique lorsque celle-ci s'épuise. Par exemple, les canaux à Na^+ des bâtonnets, qui sont aussi perméables au Ca^{++} , se ferment lorsque la stimulation lumineuse cesse : la baisse de concentration intracellulaire du Ca^{++} stimule la guanylate cyclase qui reforme la GMP cyclique.

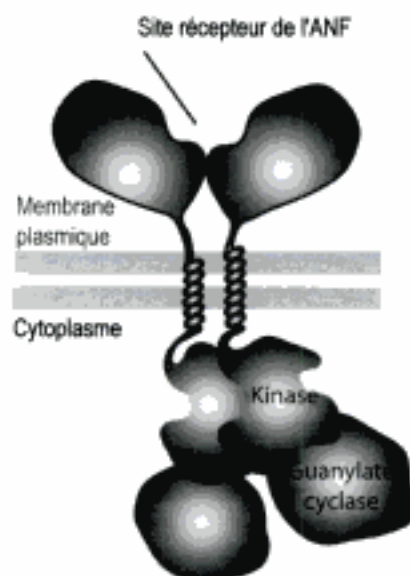


Fig. 6.10

Récepteur guanylate cyclase.

D'après T. D. Pollard.

D. Récepteurs couplés aux sphingomyélinases

L'activation des sphingomyélinases de la membrane plasmique par fixation d'un ligand sur les récepteurs du TNF ou de l'interleukine 1 (IL1) déclenche, par *clivage de la sphingomyéline*, la production de *céramide*, un second messager intracellulaire des voies de signalisation. Le céramide active une sérine/thréonine protéine kinase membranaire : cette enzyme agit sur des protéines cibles (le récepteur du facteur de croissance épidermique et la kinase Raf) qui possèdent une séquence X-Ser/Thr-Pro-X. La cascade de réactions qui s'ensuit est l'activation de la MAP-kinase, qui à son tour active différents facteurs dont les facteurs de transcription.

■ Les interleukines sont des protéines (appartenant à la famille des cytokines) dont la sécrétion, par les leucocytes ou les macrophages, est déclenchée par l'inflammation (chimiotactisme positif des leucocytes), la cicatrisation des blessures, les réactions immunitaires. Elles permettent des interactions entre les leucocytes. Certaines sont des facteurs de croissance des cellules souches hématopoïétiques.

E. Récepteurs des cytokines

1. Définition

Les récepteurs des cytokines sont des récepteurs *sans activité enzymatique intrinsèque*, couplés aux tyrosines kinases JAK (sigle de la première dénomination, *Just Another Kinase*, qui est actuellement remplacé par Janus-kinase), des tyrosine kinases cytoplasmiques non réceptrices. Ils regroupent les récepteurs des cytokines et les récepteurs de quelques hormones polypeptidiques (hormone de croissance, prolactine, somatotrophine).

2. Famille des cytokines

Les cytokines sont des glycoprotéines (8 à 50 kDa) ayant un rôle local de médiateur dans les interactions cellulaires. Elles constituent une vaste famille de molécules qui regroupe les chémokines (ou chimiokines), les interleukines, les interférons, les facteurs de croissance, les facteurs de nécrose tumorale (TNF : *Tumor Necrosis Factor*). Quelques-unes de ces cytokines sont présentées dans le tableau 6.II.

3. Structure

Les récepteurs des cytokines sont des protéines membranaires à traversée unique. Ils contiennent un domaine N-terminal de liaison des ligands extracellulaires, une seule hélice α transmembranaire et un

Tableau 6.II. Caractéristiques des cytokines.

Cytokines	Origine
Interleukines : molécules appartenant à de vastes groupes de protéines élaborées par les macrophages et les lymphocytes T au cours de la réponse immune. Les interleukines stimulent des lymphocytes B et T activés spécifiquement.	Leucocyte, macrophage
Lymphokines : polypeptides de faible poids moléculaire (comme les interleukines) libéré par les cellules T (lymphocytes T) au cours des réactions immunes et qui ont une très grande variété d'effets. Elles interviennent dans les diverses étapes de l'immunité à médiation cellulaire.	Lymphocyte
Interférons : famille de petites protéines produites par la cellule des vertébrés en réponse à une infection virale (hormones protéiques qui interviennent dans l'immunité passive et dans l'immunité acquise)	Fibroblaste, monocyte, etc.
Facteur stimulant des colonies de macrophages et granulocytes	Lymphocyte T, macrophages, fibroblastes, cellules endothéliales
Facteur de croissance transformant	Monocytes, lymphocytes T, plaquettes sanguines
Facteur de croissance dérivé des plaquettes	Plaquettes sanguines
Chémokines : induisent la migration des leucocytes vers le lieu de sécrétion de ces molécules. Facteurs inflammatoires des macrophages, facteurs d'activation des neutrophiles	Cellules endothéliales

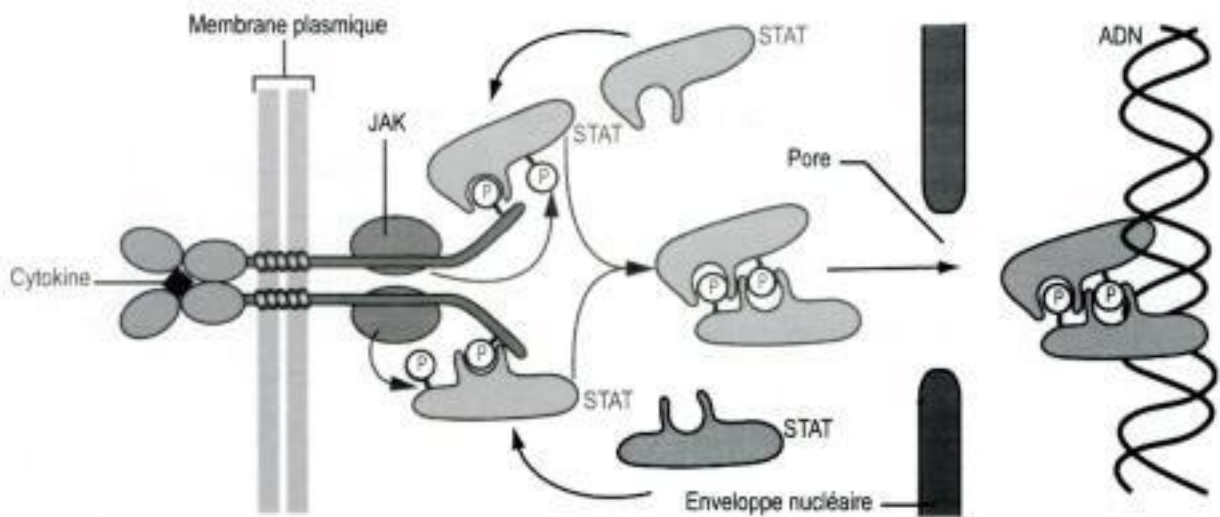


Fig. 6.11

Récepteur des cytokines.

Le récepteur est représenté ici sous la forme d'un dimère, forme qu'il acquiert après activation par le ligand. Les protéines de transcription STAT, qui possèdent un domaine SH2, sont phosphorylées par les tyrosines kinases des protéines JAK associées au récepteur. Après phosphorylation des protéines STAT, ces protéines forment des dimères. Les protéines STAT pénètrent le noyau par les pores où elles activent la transcription des gènes cibles. Redessiné d'après Lodish.

domaine C-terminal cytosolique. Ils possèdent donc la même structure que les récepteurs à activité tyrosine kinase. Cependant, les domaines cytosoliques des récepteurs de cytokine n'ont pas d'activité catalytique (fig. 6.11).

4. Mécanisme d'action

Les récepteurs des cytokines fonctionnent en collaboration avec des *tyrosines kinases non réceptrices* appartenant soit à la famille *src4* soit à la famille des *JAK*. Ces tyrosines kinases sont activées par la liaison du ligand sur le récepteur des cytokines. La première étape dans la signalisation des récepteurs de cytokine est la dimérisation du récepteur induite par la fixation du ligand et la phosphorylation croisée des tyrosine kinases non réceptrices associées. Les *tyrosines kinases JAK* interviennent dans la signalisation de la plupart des récepteurs de cytokine : elles jouent un rôle crucial en couplant ces récepteurs à la phosphorylation des résidus tyrosine des cibles intracellulaires. La dimérisation des récepteurs de cytokines active les JAK qui, alors, *phosphorylent* des activateurs de transcription appelés *STAT* (*Signal Transducer and Activator of Transcription* ; signal transducteur et activateur de la transcription). Les STAT pénètrent dans le noyau et induisent la transcription de différents gènes cellulaires. Les *membres de la famille Src* jouent un rôle clef dans la signalisation des récepteurs d'antigène des lymphocytes B et T, mais ne semblent pas intervenir dans la signalisation de la plupart des récepteurs de cytokine.

5. Fonctions

La voie des récepteurs des cytokines intervient dans la régulation de la survie et de la différenciation des neurones et de la névroglie, dans la croissance et la différenciation des hématies, des polynucléaires et des

leucocytes, l'expression des gènes des lymphocytes et des macrophages, la croissance des cellules souches hématopoïétiques, la croissance et la différenciation des cellules somatiques.

F. Récepteurs canaux ioniques ligand-dépendants et voltage-dépendants

Voir chapitre 4, p. 84.

G. Autres récepteurs

1. Intégrines

a. Définition

Les intégrines sont des protéines membranaires qui interagissent avec les *points d'adhérence focale* afin de les stabiliser. Elles jouent également un rôle de récepteur : en réponse à leur adhésion au stroma et en particulier à la *fibronectine*, elles déclenchent une cascade de réactions qui contrôle l'expression génique.

b. Structure

Une intégrine comprend deux sous-unités (α et β). Chacune possède un important domaine extracellulaire : un segment transmembranaire et un domaine cytosolique court *dépourvu d'activité enzymatique* (fig. 6.12).

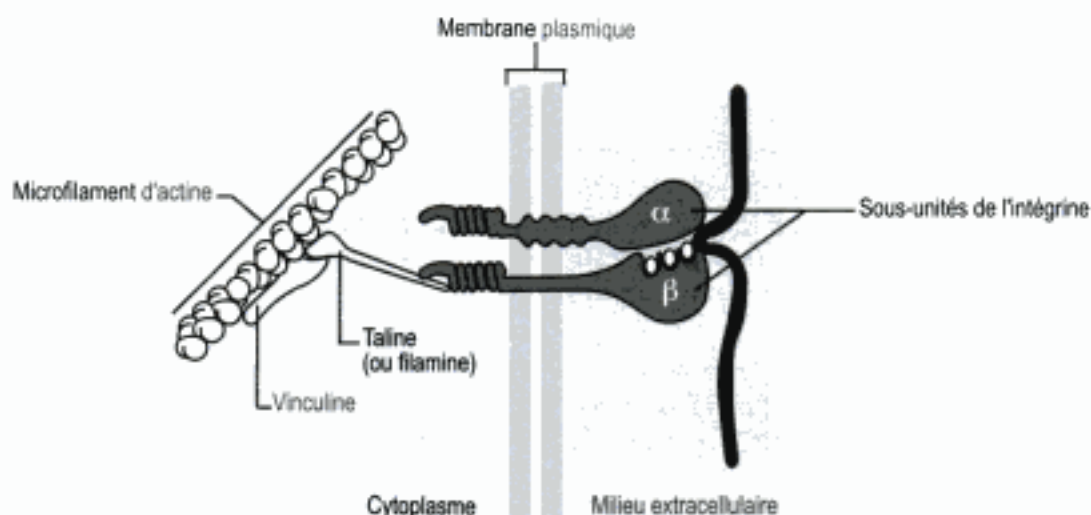


Fig. 6.12
Intégrine.
D'après Cooper.
Mécanisme d'action.

La *fixation des intégrines* sur les protéines de la matrice extracellulaire déclenche leur association avec des protéines structurales (taline et vinculine). La taline et la vinculine interagissent avec l'actine- α et l'actine pour former les fibres de tension (stress) qui sont liées aux molécules d'intégrine au niveau des *plaques (ou point) d'adhérence focale*.

Les *intégrines* interviennent également dans la diapédèse des polynucléaires neutrophiles. La membrane plasmique des cellules endothéliales des capillaires contient des *sélectines* (voir chapitre 7, « Les sélectines », p. 136) qui jouent un rôle de signal et auxquelles les intégrines se lient en cas d'inflammation ou de lésion.

L'activation des intégrines induit le recrutement de tyrosine kinases cytosoliques et de GTPases, qui activent de nombreuses voies de signalisation et qui participent à l'organisation du cytosquelette. En effet, le court domaine intracytoplasmique des intégrines est lié, par un site récepteur, à une kinase appelé FAK, présente dans les points d'adhérence focale (FAK : *Focal Adhesion Kinase* ; kinase d'adhérence focale). La liaison de ce domaine des intégrines avec la protéine FAK déclenche son activation par une *autophosphorylation* d'un site contenant des tyrosines. FAK, activée, interagit avec des protéines adaptatrices en s'associant à Grb2-Sos par l'intermédiaire des phosphotyrosines et recrute des protéines de signalisation contenant des domaines SH2. La protéine kinase FAK intervient dans l'activation de différentes voies de signalisation et en particulier la voie Ras/MAP-kinase.

c. Fonctions

Les intégrines jouent un rôle essentiel dans la construction et la stabilisation des points d'adhérence focale. De plus, leur activation déclenche, par l'intermédiaire de Ras/MAP-kinase, une prolifération cellulaire, sans intervention des facteurs de croissance.

2. Sélectines

Voir chapitre 7, « Les sélectines », p. 136.

3. Cadhérines

Voir chapitre 7, « La superfamille des cadhérines », p. 133.

4. Récepteur Notch

Le récepteur protéique *Notch* intervient essentiellement, au cours du développement embryonnaire et fœtal, dans la différenciation cellulaire et le contrôle de l'évolution des cellules (fig. 6.13).

Par exemple, la cellule épithéliale, qui se différencie en cellule nerveuse, porte, à la surface de sa membrane plasmique, une protéine de *signalisation inhibitrice Delta*. La fixation des ligands Delta sur les récepteurs Notch des cellules contiguës est responsable de l'émission d'un signal qui les empêche de se différencier en cellules nerveuses.

Cellule nerveuse en cours de différenciation
à partir d'une cellule du tube neural

Récepteur Notch

Protéine Delta inhibitrice
Inhibition de la différenciation

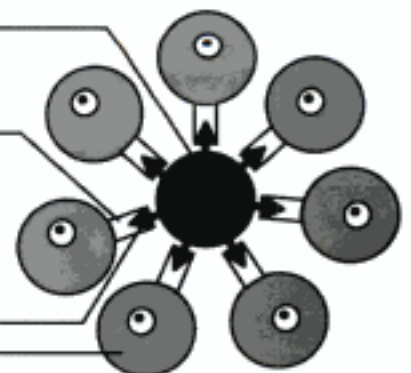


Fig. 6.13

Récepteur Notch.

Les protéines Ras

► Définition

► Les protéines Ras sont de petites protéines G appartenant à la superfamille des GTPases monomériques qui regroupe deux autres familles (la famille Rho – relais entre les récepteurs de la membrane plasmique et les faisceaux d'actine du cytosquelette – et la famille Rab – régulation du déplacement des vésicules de transport) et qui facilitent la transmission des signaux de la surface cellulaire aux autres régions de la cellule.

► Nature et localisation

► *Ras* (*Rat sarcome* – sarcome du rat) est un oncogène viral (gène appartenant aux virus capables de transformer une cellule normale en cellule cancéreuse).

► *Ras* existe aussi dans le génome normal des animaux et de l'Homme où il code pour une protéine de signalisation importante.

► Une forme mutante de *Ras* existe dans 30 à 40 % de l'ensemble des cancers humains : elle a été extraite à partir de l'ADN de ces tumeurs humaines. Des cellules normales en culture en présence de cette forme mutante deviennent des cellules tumorales malignes. L'altération du gène *ras* provoque la perte du contrôle de la croissance cellulaire. Les mutations du gène *ras* à l'origine du développement de tumeur empêchent l'hydrolyse du GTP fixé et la restauration de la forme GDP. La forme mutante de *Ras* envoie sans arrêt, le long de la voie de transmission, un message qui maintient la prolifération des cellules. Les protéines Ras sont fixées de façon covalente sur les membranes par un groupement lipidique : dans le cas de la membrane plasmique, elles sont ancrées à face cytosolique.

► Mode d'action

► Ras joue un rôle clé dans différentes voies de transmission interne. Le mode d'action est identique pour toutes les protéines Ras. Ras facilite la transmission du signal de la surface cellulaire aux autres régions cellulaires. En réponse à l'activation des TKR, elle intervient essentiellement dans la stimulation de la prolifération ou la différenciation cellulaires en modifiant l'expression génique.

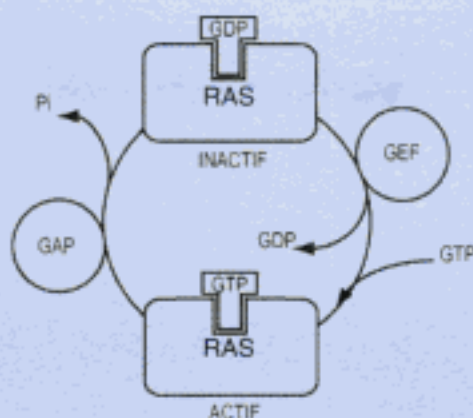
► La micro-injection d'anticorps anti-Ras inhibe la fonction Ras : elle bloque la prolifération ou différenciation cellulaire induite par les récepteurs à activité tyrosine kinase. La micro-injection d'un mutant hyperactif de Ras augmente les effets sur la prolifération ou la différenciation cellulaire. Ils sont parfois aussi importants que ceux induits par la fixation d'un ligand sur les récepteurs cellulaires de surface.

► Contrôle de l'activité de Ras

► Ras est une protéine de liaison au GTP qui oscille, tel un commutateur, entre deux conformations différentes : la forme GTP-Ras est active, la forme GDP-Ras est inactive. Des protéines de signalisation GEF et GAP contrôlent l'activité de Ras. GEF active Ras et stimule la dissociation du GDP puis l'absorption de GTP. GAP inactive Ras en augmentant la vitesse d'hydrolyse du GTP lié. GAP est sans action sur les formes mutantes hyperactives de Ras, ce qui favorise la cancérogenèse (voir fig. page suivante).

► Contrôle de l'activité de RAS

► GEF, protéine d'échange des nucléotides guanylique, active RAS en permettant la libération de GDP et son remplacement par GTP. GAP protéine, en activant la GTPase, provoque la libération d'un phosphate inorganique Pi de telle sorte que RAS, liée à GDP, devient inactif.



POINTS CLÉS

- Les *ligands* sont des molécules qui transmettent des signaux à une cellule en se fixant soit sur des récepteurs de la membrane plasmique, soit sur des récepteurs intracellulaires : les molécules informatives peuvent être *hydrophiles* ou *hydrophobes*.
- La molécule est reconnue par le récepteur qui possède un *site de fixation* dont la forme est *complémentaire* de celle de la *molécule informative*. Dans le cas des molécules hydrophiles, les récepteurs sont situés sur la membrane plasmique et le site récepteur est exposé au milieu extracellulaire.
- Les molécules informatives hydrophobes (hormones stéroïdiennes, thyroïdiennes, oxyde nitrique, eicosanoïdes, rétinoïdes et vitamine D) sont liposolubles : elles peuvent donc franchir facilement la membrane plasmique par *diffusion* et se fixer sur les récepteurs intracellulaires qui régulent la transcription de l'ADN.
- La *transmission* endocrine d'une information se fait généralement par voie sanguine (par exemple une hormone). La *transmission paracrine* intéresse des cellules voisines, ou deux cellules nerveuses (appelée aussi signalisation synaptique), ou une cellule nerveuse et une cellule n'appartenant pas au système nerveux, par exemple une cellule glandulaire (transmission synaptique électrique ou chimique). La *transmission contact-dépendante* dépend d'un ligand qui, tout en restant fixé à la cellule, s'associe au site récepteur d'une autre cellule (lymphocyte). Dans la *transmission autocrine*, le signal est reçu par la cellule émettrice.
- Les *récepteurs* sont classés en fonction de leur mécanisme d'action. Les récepteurs couplés à la protéine G contrôlent, par l'intermédiaire d'une protéine trimérique de liaison au GTP, l'activité soit d'une enzyme intrinsèque, soit d'un canal ionique de la membrane plasmique. Les *récepteurs enzymes* possèdent une activité enzymatique intrinsèque (tyrosine kinase, sérine/thréonine kinase, guanylate cyclase, sphingomyélinase) qui est déclenchée par la fixation du ligand. L'activation des *sphingomyélinases* dépend de la fixation d'un ligand sur les récepteurs du TNF ou de l'IL1. Les récepteurs des cytokines ne possèdent pas d'activité enzymatique intrinsèque mais ils fonctionnent en collaboration avec des tyrosines kinases non réceptrices.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Transmission de l'information

- ☐ A. La transduction est l'entrée de molécule informative dans la cellule.
- ☐ B. Les récepteurs de molécules hydrophiles sont des protéines transmembranaires.
- ☐ C. Les molécules hydrophobes n'ont pas de récepteurs membranaires.
- ☐ D. La molécule signal provient toujours du milieu extracellulaire.
- ☐ E. L'activation d'un récepteur se traduit toujours par une activation d'enzymes.

2. Les ligands suivants sont hydrophiles

- ☐ A. La progestérone.
- ☐ B. L'insuline.
- ☐ C. La thyroxine.
- ☐ D. L'acétylcholine.
- ☐ E. La vitamine D.

3. Les récepteurs enzymatiques

- ☐ A. Sont des protéines à un seul segment transmembranaire.
- ☐ B. Leur activation entraîne leur internalisation.
- ☐ C. Sont capables de s'autophosphoryler.
- ☐ D. La dimérisation de ces récepteurs est nécessaire à la reconnaissance du ligand.
- ☐ E. Une seule de leurs sous-unités a une activité enzymatique.

4. Les récepteurs enzymatiques ont les activités suivantes

- ☐ A. Tyrosine kinase.
- ☐ B. Théonine kinase.
- ☐ C. Adénylate cyclase.
- ☐ D. Guanylate cyclase.
- ☐ E. Phosphatidylcholinestérase.

5. Les récepteurs couplés aux protéines G

- ☐ A. La protéine G est trimérique.
- ☐ B. Seule la sous-unité gamma est capable de fixer le GDP/GTP.
- ☐ C. L'activation du récepteur provoque le départ d'une sous-unité.
- ☐ D. La protéine cible de la protéine G est une adénylate cyclase.
- ☐ E. Un dysfonctionnement de la protéine G peut entraîner un processus de cancérisation V.

QROC

1. Donner la définition d'une signalisation autocrine.
2. Donner la définition d'un second messenger.
3. Citer les principales étapes de l'activation d'un récepteur couplé à une protéine G.
4. Quelle est la fonction d'une kinase ?
5. Expliquer le mode d'action d'un ligand liposoluble.
6. Donner le mode d'action de l'acétylcholine dans la synapse.
7. Donner la fonction de la sphingomyélinase.

Pour les corrections, se reporter à la page 577

Les molécules d'adhérence cellulaire ou CAM

- I. La superfamille des immunoglobulines (Ig-CAM)**
- II. La superfamille des cadhérines**
- III. Les sélectines**
- IV. Les intégrines**

Un grand nombre de molécules d'adhésion joue un rôle essentiel dans l'assemblage des cellules en tissu et leur organisation en organe. Dans les tissus, les cellules adhèrent soit directement les unes avec les autres grâce à des protéines membranaires intrinsèques spécialisées appelées molécules de l'adhésion cellulaire (CAM : *Cell Adhesion Molecule*), soit indirectement (adhésion cellule/matrice) aux composants de la matrice extracellulaire formée par un réseau complexe de protéines et de polysaccharides sécrétés par les cellules dans le milieu extracellulaire.

Ces deux types de base d'interaction permettent non seulement aux cellules de s'associer en des tissus distincts, mais aussi de transférer bidirectionnellement des informations entre le milieu intracellulaire et le milieu extracellulaire.

Les CAM se divisent en quatre familles principales : les immunoglobulines, les cadhérines, les sélectines et les intégrines. Les CAM possèdent des domaines extracellulaires qui interviennent dans l'adhérence soit entre des cellules de même type (adhésion homotypique), soit entre les cellules de type différent (adhésion hétérotypique).

La partie extracellulaire d'une CAM peut se lier directement à une CAM identique d'une cellule voisine (liaison homophile) ou avec une CAM appartenant à une classe différente (liaison hétérophile).

La partie intracellulaire d'une CAM se lie avec des protéines adaptatrices multifonctionnelles. Ces protéines adaptatrices unissent directement ou indirectement les CAM au cytosquelette : elles peuvent également recruter des molécules intracellulaires dont la fonction est de contrôler l'activité des protéines et l'expression des gènes.

Les CAM peuvent être distribués d'une manière aléatoire tout au long de la membrane d'une cellule ou au contraire se regrouper pour former des jonctions intercellulaires.

L'adhérence intercellulaire provoque deux types différents d'interaction moléculaire :

- les domaines extracellulaires d'une CAM d'une cellule s'associent latéralement pour former des homodimères ou des oligomères d'un ordre supérieur : ce type d'interaction porte le nom d'interaction *cis* (intracellulaire ou latérale) ;
- les domaines extracellulaires d'une CAM se lient soit à la même CAM, soit à une CAM différente : ces interactions portent le nom d'interaction *trans*.

I. La superfamille des immunoglobulines (Ig-CAM)

A. Définition

Ce sont des molécules d'adhérence contenant de 1 à 7 domaines structuraux extracellulaires, semblables à ceux des immunoglobulines, qui interviennent soit dans des liaisons *homophiles*, soit dans des liaisons *hétérophiles* indépendantes du calcium.

Elles ne possèdent pas de double chaîne protéique (comme les immunoglobulines sécrétées) et ne sont ancrées dans la membrane que par une seule séquence transmembranaire.

B. Structure

La partie extracellulaire de la chaîne polypeptidique est constituée par cinq domaines de type Ig et par un ou deux autres domaines appelés répétitions de *type III de la fibronectine*. Les domaines de type Ig ont la forme de boucle. Les extrémités de ces boucles sont réunies par des ponts disulfures (fig. 7.1).

C. Les différents types d'Ig-CAM ou IgSF (superfamille des immunoglobulines)

Cette famille est particulièrement nombreuse puisqu'une centaine de gènes qui les codent sont connus. La majorité de ces molécules intervient

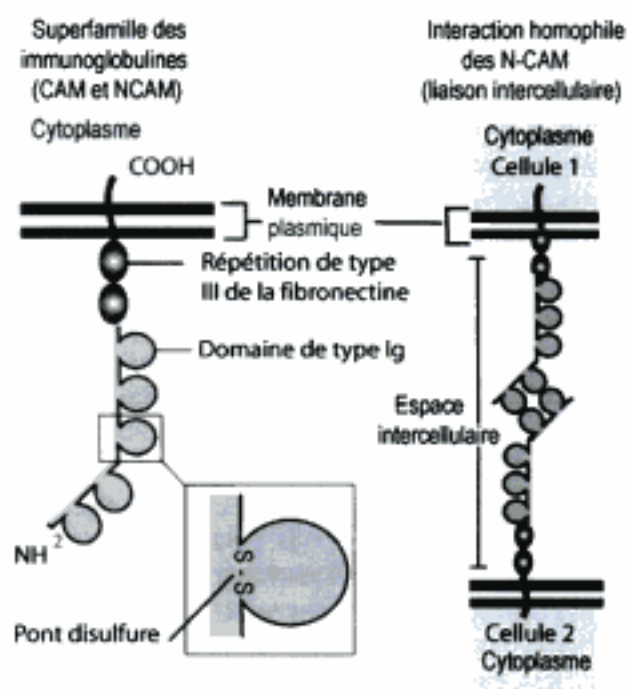


Fig. 7.1.

Structure moléculaire de N-CAM.

Les domaines Ig ont la forme de boucle dont les extrémités sont réunies par -S-S-. Les liaisons sont homophiles.

dans des interactions entre des lymphocytes et d'autres types cellulaires : par exemple, les I-CAM qui reconnaissent LFA1 (*Antigen Function-Associated Antigen* ; antigène associé aux fonctions lymphocytaires). Nous ne retiendrons ici que les N-CAM (*Neural Cell Adhesion Molecules* ; molécules d'adhésivité des cellules nerveuses), qui interviennent dans des adhérences non immunitaires.

Les molécules de la famille N-CAM sont abondantes dans le système nerveux mais aussi dans de très nombreux autres tissus. Les liaisons homophiles entre les N-CAM, indépendantes du calcium, contribuent à la formation d'associations sélectives entre les cellules nerveuses au cours du développement. Elles jouent un rôle très important au cours de la différenciation. Chez la souris, la délétion de N-CAM et de toutes ses isoformes provoque des anomalies du développement du système nerveux central et particulièrement du bulbe olfactif.

D. Fonctions

Elles établissent des *liaisons homophiles*, calcium-indépendantes, par exemple dans le système nerveux, avec des molécules de la même famille, des *liaisons hétérophiles calcium-indépendantes* avec les *intégrines* ou avec des protéoglycanes de la matrice extracellulaire ou des lames basales.

Les N-CAM et les autres membres de la famille des Ig interviennent au cours du développement et de la régénération. Il a été démontré, chez la drosophile, que la *fascicline III* (FASIII), une protéine N-CAM, est responsable l'identification des fibres musculaires par les fibres nerveuses. En l'absence de FASIII, les neurones ne reconnaissent pas les fibres musculaires et ne forment donc pas de synapses avec elle.

Les interactions adhésives des N-CAM trient les cellules qui constitueront, par exemple, les îlots de Langerhans du pancréas. Ces îlots contiennent des cellules endocrines (insuline, glucagon, etc.). L'inhibition des N-CAM aboutit à la formation d'îlots de Langerhans désorganisés.

II. La superfamille des cadhérines

A. Définition

Les cadhérines sont des glycoprotéines intrinsèques (PM de 100 kDa) comprenant environ 720 à 750 acides aminés : 50 à 60 % de leurs séquences sont identiques. Elles possèdent une spécificité de liaison homophile calcium-dépendante (le mot cadhérine est un apocope pour *calcium adhérence*). Leurs interactions favorisent l'adhérence de cellules semblables (fig. 7.2).

B. Classification des cadhérines

1. Cadhérines classiques

Il existe presque une *cadhérine* spécifique pour chaque tissu. La cadhérine E ou uvomoruline est exprimée par les cellules épithéliales : dans l'embryon de souris, elle participe au phénomène de compaction de la morula. La L-CAM (*Liver Cell Adhesion Molecule* ; molécule d'adhésivité

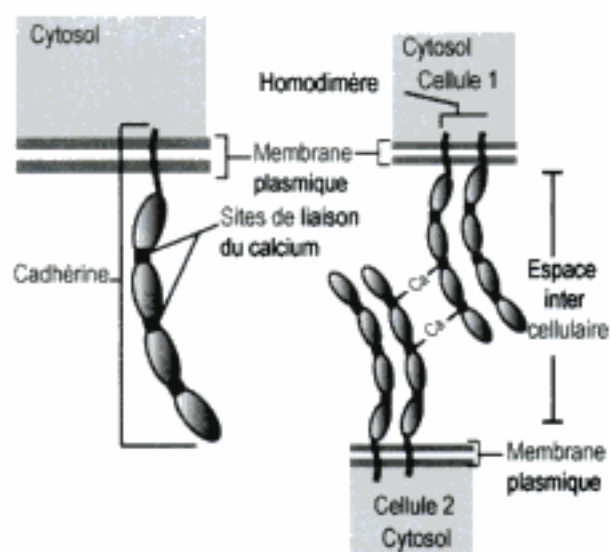


Fig. 7.2

Molécule de cadherine.

Liaison homophile calcium-dépendante.

des cellules hépatiques) est élaborée par les cellules hépatiques : elle est aussi élaborée par les cellules de l'endoderme et les structures qui en dérivent comme la thyroïde et les poumons. La cadherine M est synthétisée par les cellules satellites des fibres musculaires, la cadherine N par les neurones, la cadherine P par le placenta, la cadherine K (*kidney*) par les reins, la cadherine OB par les ostéoblastes (tableau 7.1).

Tableau 7.1. Classification des cadhérines.

Exemples	Ligands extracellulaires	Ligands intracellulaires	Localisation	Fonctions
Cadhérine E (uvomoruline)	Réciproque	Caténines, actine	Épithéliums	Jonctions adhérentes
Cadhérine P	Réciproque	Caténines, actine	Placenta, épithélium mammaire	Adhérences intercellulaires
Desmocolline	Réciproque	Plakoglobine	Épithéliums	Desmosomes
Desmoglérine	Réciproque	Plakoglobine	Épithéliums	Desmosomes
L-CAM	Réciproque	Caténines, actine	Foie	Adhérences intercellulaires
Cadhérine N	Réciproque		Neurones, cœur, muscle squelettique et fibroblastes	Jonctions adhérentes
Cadhérine K	Réciproque		Rein	Jonctions adhérentes
Cadhérine OB	Réciproque		Ostéoclaste	Jonctions adhérentes
Cadhérine VE			Cellules endothéliales	Jonctions adhérentes

2. Cadhérines non classiques ou cadhérines desmosomales

Les gènes de ces cadhérines sont portés par le chromosome 18 : elles sont présentes dans les desmosomes. Les cadhérines non classiques regroupent les *desmoglénines* (DSG1, DSG2, DSG3 = *Pemphigus vulgaris* antigen) et les *desmocollines* (DSC1, DSC2, DSC3).

C. Fonctions

Pour assurer leur fonction, les cadhérines, comme les intégrines (voir plus loin), s'attachent au cytosquelette par des molécules d'ancrage. Le cytosquelette stabilise l'agrégation latérale des molécules d'adhésion, ce qui facilite la fixation des cellules et permet d'exercer une traction sur la cellule adjacente ou sur la matrice.

Elles sont impliquées :

- dans la formation de jonctions stables entre les cellules, *jonction adhérente* et *desmosome*, ce qui n'est pas le cas pour les sélectines et les membres de la superfamille des immunoglobulines qui n'interviennent que dans des jonctions transitoires ;
- dans l'*inhibition de contact* : des cellules normales en culture se multiplient jusqu'à ce que toute la surface de la culture soit entièrement recouverte par une monocouche cellulaire. À ce moment, les cellules cessent de se diviser et se différencient, si elles sont cultivées sur un milieu adapté. L'inhibition de la cadhérine par adjonction d'anticorps anticadherine bloque l'inhibition de contact : les cellules prolifèrent sans interruption et ne se différencient pas ;
- dans l'*adhérence sélective* des cellules embryonnaires et dans la morphogenèse. Elles apparaissent ou disparaissent au moment où se déroulent, dans l'embryon, des phénomènes morphogénétiques importants. Par exemple, la cadhérine E existe dans le tube neural jusqu'à ce qu'il se sépare de l'ectoderme : à ce moment, le tube neural acquiert d'autres cadhérines comme la cadhérine N. Au cours du développement du système nerveux, les axones s'allongent. Il est donc nécessaire que l'extrémité de l'axone en croissance puisse adhérer aux cellules qui lui servent de support. Cette adhérence est facilitée par une distribution uniforme des cadhérines à la surface de la membrane de l'extrémité axonale. Une telle distribution dépend d'un pool de cadhérines contenues dans des vésicules situées au voisinage de la membrane plasmique. De plus, l'axone libère de très nombreuses molécules de cadhérines N lorsqu'il atteint la cellule cible : le contact ainsi maintenu facilite la différenciation d'une synapse chimique.

D. Pathologie

Leurs propriétés d'adhérence sont inhibées par les anticorps élaborés par l'organisme auquel elles appartiennent (autoanticorps – voir « Pathologie liée aux desmosomes », p. 154).

La membrane plasmique des cellules cancéreuses ne contient pratiquement plus de cadhérines. En culture, les cellules cancéreuses se multiplient continuellement, sans autres limites que l'épuisement du milieu et ne se différencient pas.

III. Les sélectines

A. Définition

Les sélectines sont des molécules appartenant à une famille constituée par trois protéines : la sélectine E, la sélectine L et la sélectine P, calcium-dépendantes et hétérophiles, qui sont impliquées dans la reconnaissance entre leucocytes ou les plaquettes et les cellules endothéliales des vaisseaux (fig. 7.3).

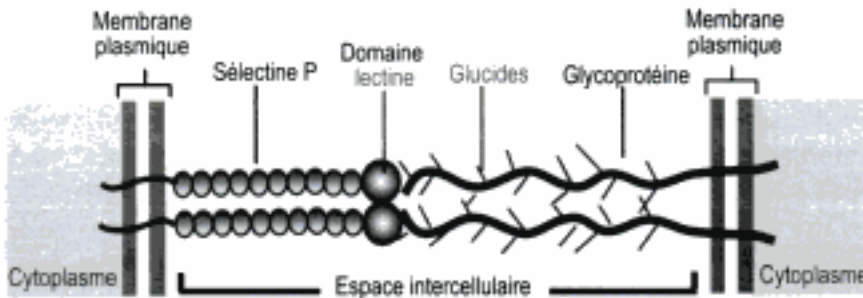


Fig. 7.3
Sélectine.
Liaisons hétérophiles calcium-dépendantes.

B. Origine

La sélectine E est élaborée dans les cellules endothéliales, la sélectine P dans les mégacaryocytes et dans les granules alpha des plaquettes ainsi que dans les cellules de l'endothélium vasculaire, la sélectine L dans la membrane des leucocytes circulants.

C. Ligands des sélectines

Ce sont des glycoprotéines proches des mucines. Ces ligands sont exprimés par les cellules endothéliales et par les leucocytes.

Les ligands des sélectines sont les antigènes des groupes sanguins H/ABO, sécrétoire et Lewis requis dans la diapédèse des leucocytes, PSGL-1 (*P Selectin Glycosylated Ligand*), un ligand leucocytaire.

D. Fonction

1. Dans les zones inflammatoires

Les cellules endothéliales sont activées par des médiateurs de l'inflammation (histamine) : des vésicules de stockage de la sélectine P fusionnent avec la membrane plasmique. L'exocytose de ces vésicules permet l'incorporation des molécules de sélectine P dans la membrane plasmique. Les sélectines exprimées par les cellules endothéliales au niveau de la face luminale ralentissent la vitesse de déplacement des leucocytes, afin de permettre l'extravasation (diapédèse).

Les sélectines interagissent avec des oligosaccharides (PSGL-1, un ligand situé sur les leucocytes et les plaquettes). Les liaisons sélectines/ligands se forment et se dissocient extrêmement rapidement. Un petit nombre de liaisons, pendant un temps suffisamment court pour arrimer les leucocytes, permet au flux sanguin de déplacer les leucocytes à la surface de l'endothélium. La vitesse de ces cellules au contact de la membrane de la

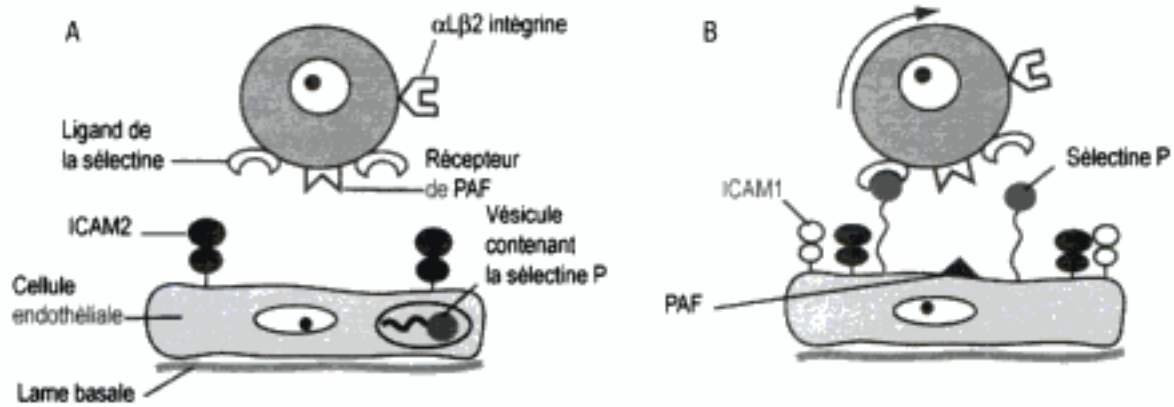


Fig. 7.4

Diapédèse.

Phase de roulement (*rolling*). **A.** Leucocyte circulant au repos. **B.** Activation de la cellule endothéliale et roulement du leucocyte. Redessiné d'après Lodish et coll., *Molecular Cell Biology*.

cellule endothéliale est réduite d'une manière très importante. Le déplacement est saccadé au contact de l'endothélium : ce type de déplacement est désigné par le mot « roulement » (fig. 7.4).

Pendant cette phase de roulement, l'endothélium élabore un facteur d'activation des plaquettes PAF (*Platelet Activation Factor*) : ce facteur augmente l'activité de liaison des intégrines localisées à la surface des leucocytes. Ces intégrines activées se lient à ICAM1 et 2 (*Intercellular Cell Adhesion Molecules* ; molécules d'adhésion intercellulaire) situées à la surface des cellules endothéliales. Le roulement s'arrête (fig. 7.5). Les leucocytes peuvent désormais traverser l'endothélium et migrer vers les tissus périphériques.

2. Dans les ganglions lymphatiques

Les cellules endothéliales n'expriment pas les sélectines. Elles expriment des oligosaccharides qui sont reconnus par les sélectines des leucocytes : la vitesse de déplacement des leucocytes est ralentie et les lymphocytes sont piégés.

IV. Les intégrines

A. Définition

Les intégrines sont des récepteurs membranaires. Elles forment une famille de protéines transmembranaires calcium-dépendantes qui sont les responsables majeurs de l'attachement des cellules à la matrice ou entre cellules et de la dépendance d'ancrage.

1. Localisation

Les intégrines sont localisées à la surface des cellules qui entrent en contact avec la matrice extracellulaire (par exemple les fibroblastes), des cellules épithéliales en rapport la lame basale (par exemple les hémidesmosomes des cellules basales des épidermes), des globules blancs et des plaquettes.

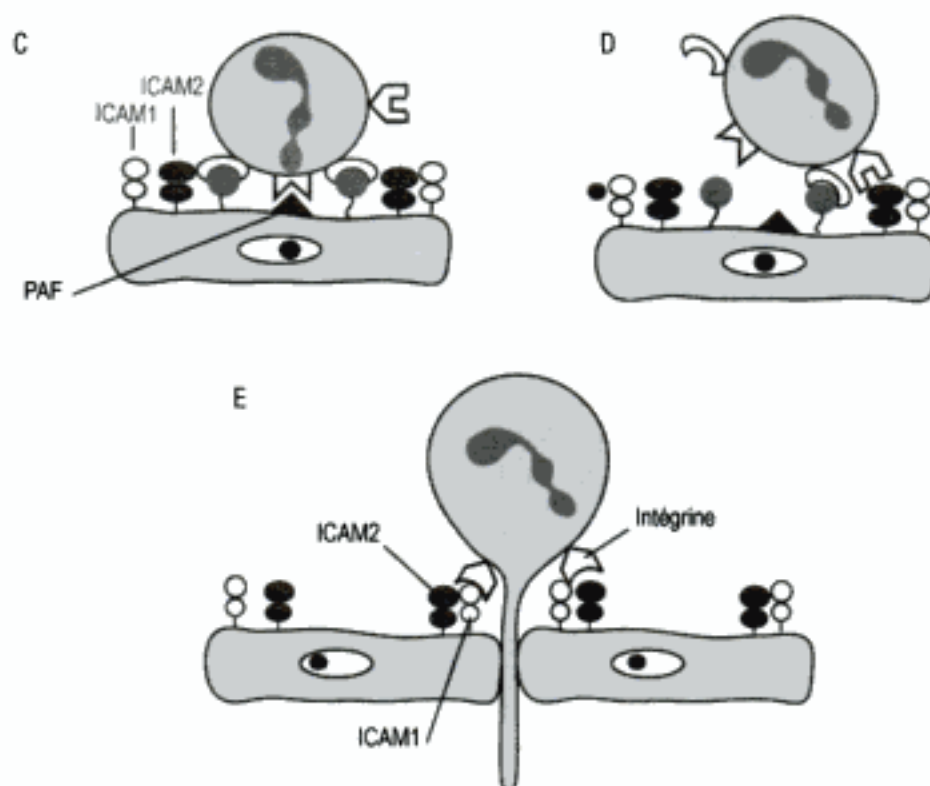


Fig. 7.5

Diapédèse (suite).

C. Activation du leucocyte.

D. Adhésion par intégrine/I-CAM1.

E. Diapédèse.

Redessiné d'après Lodish et coll.,
Molecular Cell Biology.

On trouve, chez l'Homme, les *intégrines* $\alpha 2 \beta 1$, $\alpha 5 \beta 1$, $\alpha 6 \beta 1$ qui reconnaissent les séquences Arg-Gly-Asp existant sur des molécules de fibronectine.

B. Structure

La structure des intégrines leur permet de servir en quelque sorte de lien entre le cytosquelette et la lame basale ou la matrice (fig. 7.6).

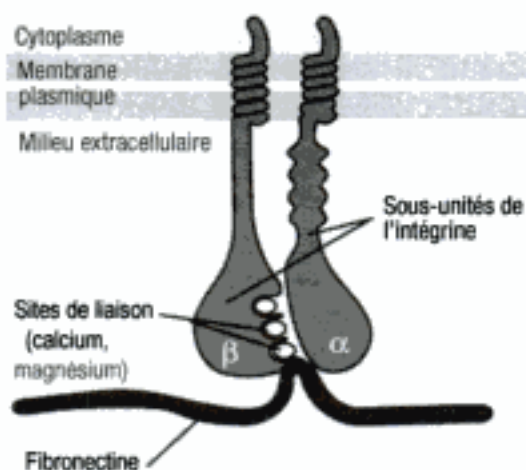


Fig. 7.6

Molécule d'intégrine

Redessiné d'après Lodish.

En effet, les intégrines sont des molécules transmembranaires possédant deux domaines cytosoliques et deux domaines extracellulaires. Ce sont des hétérodimères constitués chacun par une sous-unité alpha et une sous-unité bêta non liées par des liaisons covalentes. La sous-unité alpha se lie aux cations bivalents (calcium, magnésium). Les extrémités extracellulaires de ces deux sous-unités peuvent se lier à de nombreux composants (collagène, fibronectine, laminine). Les extrémités cytosoliques beaucoup plus courtes s'associent, par l'intermédiaire de protéines (taline, vinculine), au cytosquelette sous-membranaire.

C. Mode de fonctionnement

1. Activation des intégrines

Les intégrines, en place dans la membrane plasmique, sont inactives. Leur activation dépend de signaux chimiques d'origine extracellulaire. Lorsqu'elles sont activées, elles reconnaissent des sites de liaisons des molécules extracellulaires contenues dans la lame basale ou dans la matrice (fibronectine, laminine, collagène IV, etc.). Elles sont également capables de reconnaître des CAM, par exemple celles qui appartiennent à la superfamille des immunoglobulines.

2. Sites de liaisons

Le site de liaison de la fibronectine est une courte séquence aminoacyle (séquence RGD) reconnue par de nombreux membres de la famille des intégrines. La séquence asparagine-glycine-glutamine-alanine du collagène et de la laminine est reconnue par d'autres types d'intégrines.

D. Fonctions

1. Ancrage des cellules à la matrice extracellulaire

Les intégrines ont pour fonction d'attacher les cellules à la matrice extracellulaire tout en servant d'ancrage au cytosquelette. Les intégrines permettent l'adhérence cellule-matrice sans former de plaque d'adhésion mature. Une telle disposition des molécules est responsable de la stabilité de la liaison des cellules à la matrice. Cette disposition moléculaire peut s'organiser de manière à constituer des zones spécialisées transitoires (points de contact focaux) ou à durée de vie plus longue (hémidesmosomes).

2. Activation des voies de signalisation intracellulaire

Les intégrines, en se fixant sur la fibronectine, activent les voies de signalisation intracellulaire. Par exemple, cette fixation active Src, une tyrosine kinase cytoplasmique qui à son tour active FAK, une tyrosine kinase. FAK peut alors activer, par phosphorylation, des voies de signalisation intracellulaire qui favorisent la survie, la croissance et la division des cellules.

3. Contrôle de l'activité des intégrines

L'activité des intégrines est régulée par les cellules. Une signalisation appelée « signalisation de dedans en dehors » dépend soit de la phos-

phorylation des domaines cytoplasmiques, soit de l'association avec des protéines cytoplasmiques d'activation. Par exemple, l'activation des intégrines des leucocytes ou des plaquettes dépend de ce type de signalisation. De même, les cellules précurseurs du muscle, qui sont dans l'impossibilité d'inactiver l'intégrine, restent fixées à la matrice extracellulaire et ne peuvent donc pas migrer.

4. Dépendance d'ancrage

La croissance, la prolifération cellulaires et même parfois la survie de la plupart des cellules dépendent de leur ancrage sur la matrice extracellulaire. Les intégrines sont les principaux responsables de cette dépendance d'ancrage et des signaux intracellulaires qu'elle engendre. Une cellule peut contrôler l'activité de ses propres intégrines. Elles sont des transducteurs de signaux : la fixation des intégrines sur la matrice les active et déclenche des voies de signalisation intracellulaire qui contrôlent la croissance, la survie et la prolifération des cellules.

POINTS CLÉS

- Les CAM possèdent des domaines extracellulaires qui interviennent dans l'adhérence soit entre des cellules de même type (adhésion homotypique), soit entre les cellules de type différent (adhésion hétérotypique).
- Les CAM regroupent quatre familles principales :
 - les *immunoglobulines Ig-CAM* interviennent soit dans des liaisons homophiles, soit dans des liaisons hétérophiles indépendantes du calcium avec les intégrines ;
 - les *cadhérines* (calcium adhérentes) sont homophiles et calcium-dépendantes. Elles jouent un rôle essentiel dans les desmosomes et les jonctions adhérentes. Elles possèdent une adhérence sélective et sont responsables de l'inhibition de contact ;
 - les *sélectines* sont calcium-dépendantes et hétérophiles. Elles se fixent sur des oligosaccharides spécifiques. Elles sont impliquées dans la reconnaissance des leucocytes ou des plaquettes par les cellules endothéliales des vaisseaux portées. Elles interviennent au cours de la diapédèse en se liant avec l'intégrine du leucocyte circulant ;
 - les *intégrines* réalisent des adhésions hétérophiles calcium-dépendantes. Elles forment une famille de protéines transmembranaires responsable majeur de l'attachement des cellules à la matrice, entre cellules ou entre le cytosquelette et la lame basale ou la matrice extracellulaire. Elles se fixent sur des protéines spécifiques. Les intégrines, en se fixant sur la fibronectine, activent les voies de signalisation intracellulaire.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Les CAM

- ☐ A. Permettent l'adhésion entre cellules de différents types.
- ☐ B. L'adhésion ne peut se faire qu'entre CAM identiques.
- ☐ C. Certaines CAM peuvent adhérer à la matrice extracellulaire.
- ☐ D. Les cadhérines participent aux processus d'inhibition de contact.
- ☐ E. Les cadhérines peuvent faire des jonctions stables.

2. Les Ig CAM

- ☐ A. Les Ig-CAM font des liaisons homophiles Ca^{++} -dépendantes.
- ☐ B. Les Ig-CAM font des liaisons avec des intégrines Ca^{++} -dépendantes.
- ☐ C. Les N-CAM sont présentes dans de nombreux tissus.
- ☐ D. Certaines d'entre elles font la transduction de signaux externes.
- ☐ E. Participent à la formation des desmosomes.

3. Les intégrines

- ☐ A. Sont des hétérodimères.
- ☐ B. Les deux sous-unités fixent le Ca^{++} .
- ☐ C. Sont capables de se lier au collagène de la matrice.
- ☐ D. Font la transduction de signaux externes.
- ☐ E. Les cadhérines sont tissus-spécifiques.

QROC

1. Donner la définition d'une adhésion homotypique.
2. Donner la définition d'une liaison hétérophile.
3. Citer les principales familles de CAM.
4. Quelle famille de CAM est capable de transmettre un signal ?
5. Quels sont les ions intervenant dans les interactions des intégrines ?
6. Quelle est la caractéristique des membranes des cellules cancéreuses vis-à-vis de certaines CAM ?

Pour les corrections, se reporter à la page 578

Les jonctions intercellulaires

- I. Définition**
- II. Classification**
- III. La forme des jonctions intercellulaires**
- IV. Les jonctions occlusives**
- V. Les jonctions d'ancrage**
- VI. Les jonctions communicantes**
- VII. Les complexes de jonction**
- VIII. Les hémidesmosomes**

Les métazoaires sont constitués par des cellules assemblées en tissus, eux-mêmes associés en organe. Il est évident que ces cellules ne sont pas libres : le sang, dans la mesure où il pourrait être considéré comme un tissu, est le seul à posséder des cellules libres. Dans les cultures, les cellules libres et indépendantes les unes des autres s'associent par des jonctions auxquelles le nom de nexus fut donné.

Les jonctions intercellulaires contiennent de nombreuses molécules responsables de la transmission de signaux. Elles jouent un rôle de centre organisateur : elles contrôlent des voies de transmissions spécifiques de signaux intercellulaires, essentiels au cours du développement embryonnaire. Elles sont très souvent profondément modifiées au cours de la formation de tumeur.

Les jonctions intercellulaires sont des structures dynamiques capables de se modifier au cours du développement, d'événements normaux (cicatrisation) ou de phénomènes pathologiques (métastases). Elles interviennent dans le maintien de la différenciation épithéliale : leur déstabilisation permet aux cellules d'envahir les tissus voisins et au cancer d'évoluer défavorablement.

I. Définition

Les jonctions intercellulaires sont des régions spécialisées de la membrane plasmique qui, outre l'adhérence, assurent en fonction de leur structure soit l'étanchéité de l'espace intercellulaire (jonctions serrées), soit l'ancrage des cellules (jonctions d'ancrage), soit la communication d'informations entre les cellules (jonctions communicantes).

II. Classification

Les jonctions intercellulaires (fig. 8.1) se classent en :

- *jonctions occlusives* (serrées ou zonula occludens) : ces *jonctions étanches*, localisées, par exemple, à proximité du pôle apical des cellules épithéliales, constituent une limite entre le milieu intérieur et le milieu extérieur. Ce type de jonction s'observe dans les épithéliums, par exemple l'épithélium digestif : les feuillettes externes des membranes plasmiques appartenant à deux cellules voisines s'accrochent de telle manière que l'espace intercellulaire devenu imperméable ne puisse communiquer que dans certaines conditions avec la lumière de l'organe ;
- *jonctions d'ancrage* : elles attachent fortement les cellules entre elles ou avec la lame basale. Elles regroupent les contacts focaux temporaires (ou plaque d'adhérence), les zonulas adherens, et les jonctions adhérentes (desmosomes ou macula adherens et hémidesmosomes) ;
- *jonctions communicantes* (*gap junctions*) : elles assurent le passage de molécules informatives, d'un poids moléculaire compris entre 1 000 et 1 500 Da, entre les cellules qu'elles joignent. Elles assurent également un couplage électrique.

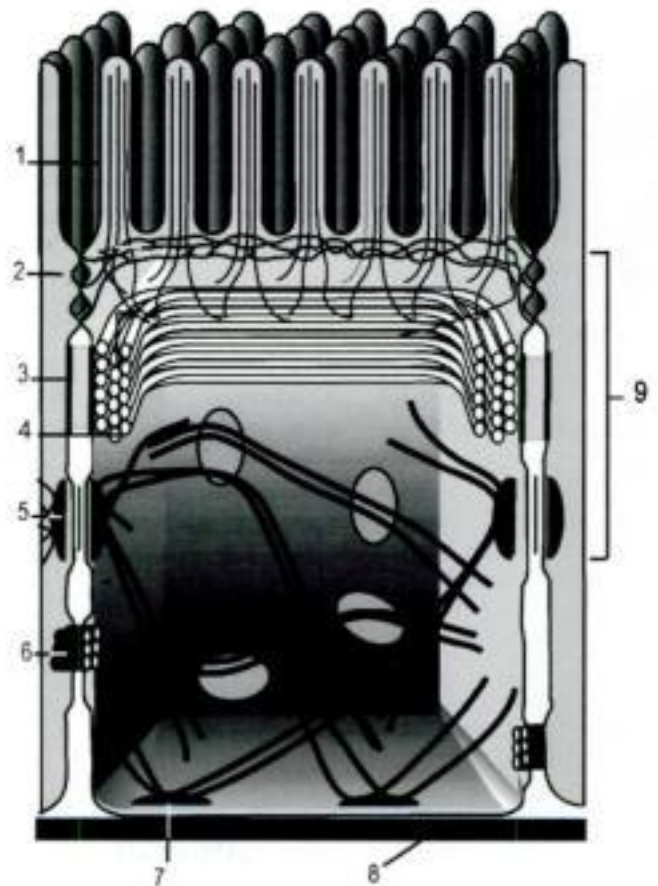


Fig. 8.1

Entérocyte (cellule intestinale).

1. Microvillosité.
2. Jonction occlusive.
3. Jonction intermédiaire (ceinture adhérente).
4. Microfilaments d'actine.
5. Desmosome.
6. Jonction communicante (gap).
7. Hémidesmosome.
8. Lame basale.
9. Complexe de jonction.

III. La forme des jonctions intercellulaires

Les jonctions intercellulaires diffèrent non seulement par leur structure et leurs fonctions mais également par leur forme (fig. 8.2). On distingue :

- le type de zonula (jonctions serrées, jonctions intermédiaires) s'applique aux jonctions qui encerclent complètement la cellule ; elles s'observent

essentiellement dans les épithéliums et en particulier dans la partie apicale des épithéliums prismatiques simples (par exemple l'épithélium intestinal) ;

- le type macula (ou maculaire) décrit des jonctions circulaires ou ovalaires (par exemple le desmosome) ;
- le type fascia s'applique aux jonctions plus ou moins étendues, à contours irréguliers.

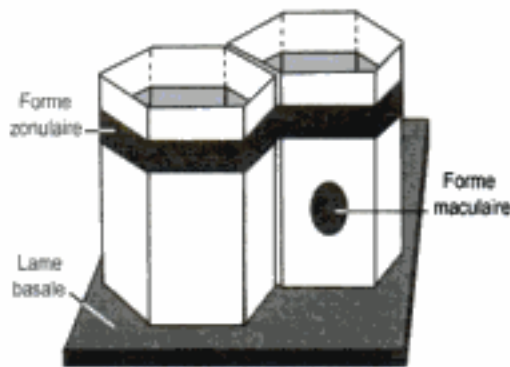


Fig. 8.2

Les deux principales formes (maculaire et zonulaire) des jonctions intercellulaires.

IV. Les jonctions occlusives

A. Définition

Les jonctions occlusives (serrées, *tight junctions*, jonctions étanches ou imperméables) sont des régions spécialisées de la membrane plasmique, qui ceinturent la cellule à son pôle apical : les feuillettes externes de la membrane plasmique établissent un contact si étroit (sans toutefois fusionner l'un avec l'autre) qu'ils obturent complètement l'espace intercellulaire et empêchent le passage de toute substance.

B. Localisation

Ce type de jonction intéresse les cellules endothéliales, les cellules épithéliales polarisées comme les entérocytes, les cellules hépatiques au voisinage du canal biliaire qu'elles bordent. Les jonctions occlusives n'existent pas uniquement dans les cellules épithéliales polarisées. Par exemple, les tubes séminifères sont limités par des cellules épithéliales (les cellules de Sertoli) qui établissent des contacts étroits avec les cellules germinales. Ces cellules sont réunies aux cellules de Sertoli par des jonctions serrées. Des jonctions serrées existent également dans l'épiderme, un épithélium pluristratifié : elles unissent les cellules superficielles du stratum granulosum (couche granuleuse).

C. Structure en microscopie électronique

1. Microscopie électronique à transmission

Sur une coupe perpendiculaire au plan de la jonction, une photomicrographie électronique à transmission montre que ces jonctions sont constituées par *cinq feuillettes*, trois feuillettes osmiophiles et deux feuillettes osmiophobes.

L'espace intercellulaire n'est pas visible car les *feuillet externe* des membranes plasmiques des deux cellules sont *accolés* et constituent un feuillet médian. Les deux feuillets sombres, les plus externes (par rapport à la jonction), correspondent au feuillet interne de chacune des deux membranes plasmiques qui s'affrontent : ils constituent les faces cytoplasmiques. Les deux feuillets clairs sont séparés par le feuillet médian.

2. Microscopie électronique après cryofracture

Après cryofracture (fig. 8.3), la microscopie électronique des répliques montre qu'au niveau du feuillet médian, chacune des membranes plasmiques A et B contient des protéines transmembranaires d'adhérence. Les protéines d'adhérence de la membrane A sont serrées les unes contre les autres : elles dessinent des lignes plus ou moins régulières, « les brins de scellement ». Ces brins de scellement constituent un réseau plus ou moins ramifié qui fait le tour de l'extrémité apicale de la cellule. Le réseau de brins de scellements de la membrane B est absolument superposable à celui de la membrane A. Les molécules d'adhérence du réseau A établissent des contacts très étroits avec celles du réseau B.

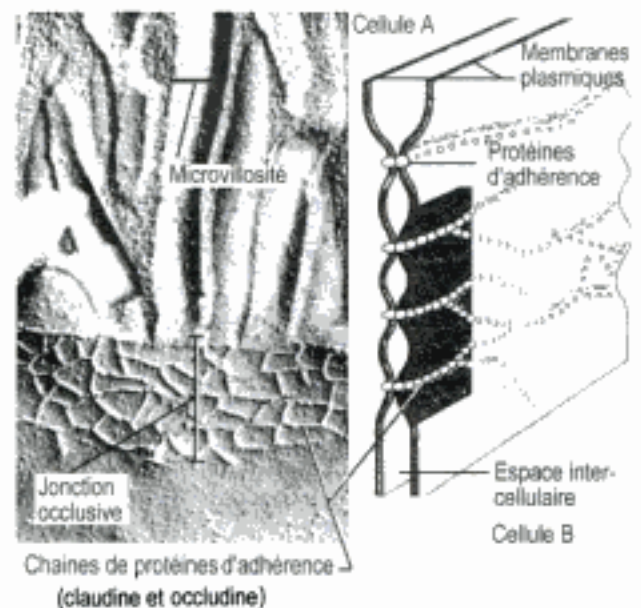


Fig. 8.3

Jonction occlusive

À gauche : photomicrographie (cryodécoupage) d'une jonction occlusive.

À droite : représentation schématisée tridimensionnelle d'une jonction occlusive.

3. Composition moléculaire

Les protéines qui constituent les brins de scellement sont :

- les *claudines*, principales protéines transmembranaires des jonctions occlusives. Elles forment une famille d'au moins huit protéines. Les claudines contiennent quatre séquences transmembranaires. Elles n'ont aucune parenté de séquence avec l'occludine. Elles diffèrent en fonction des jonctions occlusives auxquelles elles appartiennent. Une mutation du gène codant pour les claudines des jonctions occlusives des cellules rénales provoque une perte du magnésium dans l'urine ;
- les *occludines*, dont le segment carboxyterminal intracytoplasmique se lie à ZO1 (initiales de zonula occludens, une protéine membranaire périphérique) qui s'associe à son tour à ZO2 et à la spectrine (fig. 8.4).

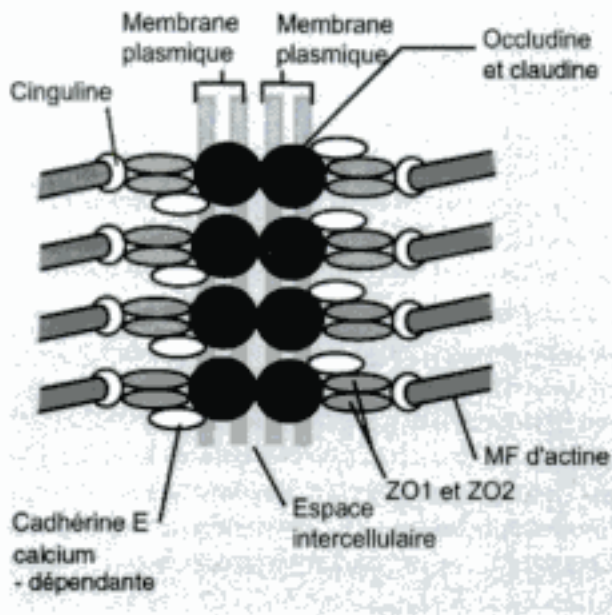


Fig. 8.4

Jonction occlusive.

Modèle proposé d'organisation moléculaire.

Une association latérale étroite entre les domaines extracellulaires des claudines et des occludines, à travers l'espace qui sépare les deux membranes adjacentes, constituerait la base structurale de la barrière de perméabilité.

Des protéines d'adhérence *ZO1* et *ZO2* sont associées aux protéines de jonction. Les *ZO* appartiennent à la famille des protéines *Dlg* (*Discs-large proteins* ; protéines à larges disques) ; la protéine *ZO1* est liée à la protéine *ZO2*.

La cadhérine E se lie aux faisceaux de filaments d'actine par l'intermédiaire des caténines α et β .

D'autres protéines cytoplasmiques, la *cinguline* et une petite protéine fixant la guanosine triphosphate, sont présentes dans les jonctions étanches.

Le rôle des *occludines* est discuté. En effet, si l'on supprime l'expression du gène de l'occludine, les jonctions serrées se mettent malgré tout en place. En revanche, l'absence de claudines empêche la formation de ces jonctions.

ZO2 et la *cinguline* seraient spécifiques des jonctions étanches.

D. Contrôle de la jonction occlusive

1. Zonuline

Les entérocytes sécrètent une protéine, la *zonuline*, qui contrôle l'étanchéité des jonctions occlusives.

2. Stimuli extracellulaires

Des stimuli extracellulaires régulent les jonctions occlusives : par exemple par des hormones (vasopressine), des cytokines (TNF) par leurs seconds messagers (par exemple le calcium et l'AMPc) et par leurs effecteurs (protéine kinases A et C).

3. Concentration locale du calcium cytosolique

Une augmentation locale de la concentration cytoplasmique en calcium dans les cellules épithéliales provoque l'ouverture des jonctions occlusives.

4. Rôle de la jonction intermédiaire

La formation des jonctions occlusives dans les cellules épithéliales dépend de la formation des jonctions intermédiaires. La dislocation des jonctions intermédiaires provoque un accroissement de la perméabilité des jonctions occlusives. Des cellules (macrophages, leucocytes) peuvent traverser les endothéliums, les épithéliums en créant une ouverture dans les jonctions étanches sans modifier l'étanchéité transépithéliale. Les cellules en migration provoquent une augmentation locale du calcium qui induit l'ouverture de la jonction occlusive,

E. Fonctions

1. Chez l'embryon

Les jonctions occlusives apparaissent très tôt au cours de la formation de la blastula : elles définissent, à ce stade, un des axes de polarité de l'embryon.

2. Contrôle de la perméabilité

Dans les épithéliums prismatiques simples polarisés (par ex. l'épithélium intestinal), elles conditionnent le transport à travers l'épithélium puisque les jonctions occlusives ferment l'espace extracellulaire entre des cellules adjacentes séparant ainsi deux compartiments extracellulaires : le compartiment apical et le compartiment basolatéral. Le compartiment apical est en relation directe avec la lumière d'un organe comme l'intestin, les voies aériennes ou les tubules rénaux. Le compartiment basolatéral est situé entre les cellules épithéliales et s'étend jusqu'à la lame basale.

Les jonctions serrées inhibent la diffusion des solutés entre les compartiments apical et basolatéral de cet espace. Par exemple, les jonctions occlusives empêchent le passage du glucose entre les cellules épithéliales : le glucose passe obligatoirement par le compartiment plasmique.

Les jonctions occlusives des cellules de la couche granuleuse de l'épiderme confèrent à cet épithélium une imperméabilité relative qui s'ajoute à celle de la couche cornée.

L'imperméabilité de l'épithélium vésical dépend des jonctions occlusives qui unissent les cellules épithéliales et de l'épaisseur de leur membrane plasmique.

Les jonctions occlusives sont également importantes dans les cellules assurant le transport actif d'une substance contre un gradient de concentration (transport d'anion par exemple). Dans ce cas, elles empêchent la diffusion rétrograde de la substance transportée

3. Maintien de la composition membranaire

Les jonctions occlusives arrêtent les déplacements latéraux des protéines et des lipides : la membrane plasmique apicale et la membrane plasmique latérobasale conservent leur composition moléculaire caractéristique de leur différence de fonction.

F. Pathologie liée aux jonctions occlusives

Une lésion des jonctions occlusives provoque une perte de leur étanchéité : les conséquences peuvent en être extrêmement graves puisque le milieu intérieur de l'organisme et le milieu extérieur ne sont plus séparés. Une désorganisation liée à une mutation génétique ou à une altération des *claudines* par une toxine bactérienne provoque une fuite de l'eau, des protéines et des sels. Une toxine bactérienne, la *zonula toxine* sécrétée par le *vibrio cholerae* (agent pathogène responsable du choléra), désorganise les claudines et permet une fuite considérable de liquide par les espaces intercellulaires qui se traduit par une diarrhée. Un cholérique perd environ 10 litres d'eau par jour. Les gastro-entérites saisonnières sont principalement dues à des *rotavirus* qui agissent de la même manière.

V. Les jonctions d'ancrage

A. Les divers types de jonctions d'ancrage

L'ancrage des cellules est réalisé par deux groupes de jonctions qui diffèrent par leur constitution moléculaire :

- les *jonctions adhérentes* et les *desmosomes* qui attachent les cellules les unes aux autres et qui sont un assemblage de protéines d'adhésion transmembranaires de la famille des cadhérines ;
- les *plaques d'adhésion* (ou contacts focaux) et les *hémidesmosomes* qui fixent les cellules à la matrice extracellulaire et qui sont un assemblage de protéines d'adhésion transmembranaires de la famille des intégrines.

Les jonctions d'ancrage confèrent à des groupes cellulaires une stabilité mécanique qui leur permet de fonctionner comme des unités cohésives. De plus, des protéines de signalisation cellulaire existent dans de nombreuses jonctions d'ancrage : elles transmettent des signaux vers le milieu intracellulaire.

B. Principales classes de protéines des jonctions d'ancrage

Les protéines des jonctions d'ancrage se classent en :

- *protéines d'ancrage intracellulaires* qui s'organisent en une plaque cytoplasmique dense au rayonnement électronique, située contre la face cytoplasmique de la membrane plasmique. Cette plaque relie soit les microfilaments d'actine, soit les filaments intermédiaires à la jonction ;
- *protéines d'adhésion transmembranaires*. Le domaine cytosolique de ces protéines d'ancrage est lié aux protéines d'ancrage cytoplasmique situé dans la plaque cytoplasmique. Le domaine extracellulaire interagit soit avec les protéines d'adhésion intracellulaire appartenant à la cellule voisine (jonctions adhérentes, desmosomes), soit avec la matrice extracellulaire (hémidesmosomes, contacts focaux).

C. Jonctions adhérentes

1. Définition

Les jonctions adhérentes (dénommées également jonctions intermédiaires, desmosomes ceinturants, zonula adherens, ceintures d'adhérence

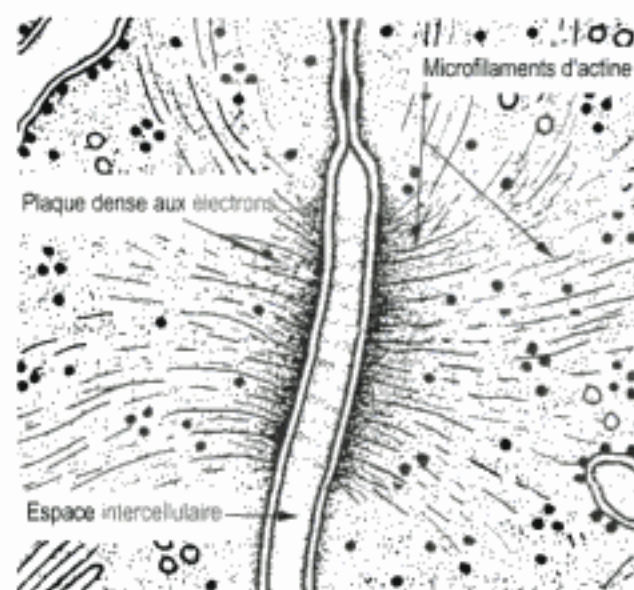


Fig. 8.5

Jonction adhérente.In : Krstic. *Ultrastructure of the mammalian cell*.

Springer Verlag, 1976.

ou jonctions intercellulaires de forme zonulaire) sont observées essentiellement dans les épithéliums prismatiques ou cubiques simples des cellules polarisées. Elles sont localisées au voisinage du pôle apical au-dessous de la jonction serrée (fig. 8.5. Voir également fig. 8.1).

Elles font complètement le tour de la partie apicale de la cellule, assurant ainsi une excellente adhérence entre les cellules. Elles sont très développées dans les entérocytes où elles constituent une bande éosinophile : les cadres cellulaires (ou épicyellulaires).

Les *jonctions adhérentes* sont caractéristiques des cellules épithéliales polarisées et sont toujours situées entre la jonction occlusive et le pôle basal.

2. Structure en microscopie électronique à transmission

Ces jonctions comprennent un espace clair intercellulaire de 15 à 25 nm d'épaisseur contenant les molécules de cadhérine E et du calcium. Cet espace est limité par les membranes des deux cellules adjacentes. La membrane plasmique de chacune de ces cellules est en rapport avec une *plaque cytoplasmique dense aux électrons* : ces plaques contiennent de l' α -actinine et de la vinculine, ainsi que les extrémités des filaments d'actine qui s'y insèrent.

3. Organisation moléculaire

Les homodimères de cadhérines E unissent les cellules épithéliales aux cellules adjacentes. Ces interactions sont homophiles, calcium-dépendantes. La queue cytoplasmique des cadhérines est ancrée aux MF d'actine par l'intermédiaire des caténines α , β et γ . La caténine α est liée à l'actine, les caténines β et γ sont liées au domaine cytosolique de la cadhérine (fig. 8.6 et 8.7).

La *caténine β* et une protéine apparentée appelée plakoglobine ou *caténine γ* se lient aux domaines cytoplasmiques de la cadhérine.

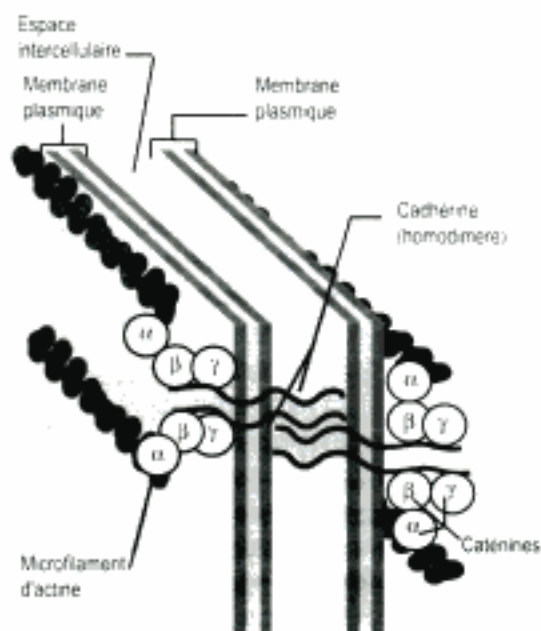


Fig. 8.6

Jonction adhérente.

Organisation moléculaire (modèle proposé).

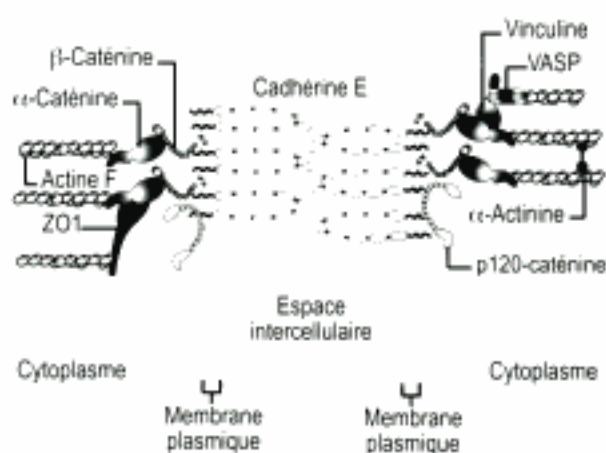


Fig. 8.7

Jonction adhérente.

Le domaine extracellulaire contient des dimères de cadhérine E groupés au niveau d'une jonction adhérente (interaction homophile calcium-dépendante des molécules de cadhérines). Le domaine cytosolique des cadhérines E se lie directement ou indirectement à des protéines adaptatrices qui connectent la jonction à un microfilament d'actine du cytosquelette et participe à une voie de signalisation intracellulaire. Redessiné d'après Vasioukhin V., Fuchs E. *Curr Opin Cell Biol* 2001, 13 : 76.

Les MF d'actine se groupent en faisceaux orientés parallèlement à la membrane plasmique. Ils s'insèrent par leurs deux extrémités aux jonctions adhérentes formant ainsi, avec les faisceaux appartenant aux autres cellules de l'épithélium, un réseau contractile transcellulaire étendu.

4. Fonctions

a. Au cours de la morphogenèse

Les jonctions adhérentes transmettent les forces motrices développées par les filaments d'actine. En se contractant grâce à des protéines motrices (myosine), elles permettent la formation de tubules épithéliaux, le repliement des feuilletts épithéliaux.

b. Intégrité de l'épithélium

Ces jonctions continues assurent l'intégrité physique de l'épithélium.

c. Assemblage des jonctions serrées

Les jonctions adhérentes interviennent dans l'assemblage des jonctions serrées. Ces jonctions ne peuvent se former qu'en présence d'une jonction adhérente. Les anticorps anti-cadhérine bloquent à la fois la formation de jonctions adhérentes et des jonctions serrées alors que ces dernières ne contiennent pas de cadhérine.

d. Transmission de signaux extracellulaires

Les jonctions adhérentes ont aussi un rôle de « centre organisateur » pour plusieurs voies de transmission des signaux intercellulaires. Des kinases peuvent, en agissant sur les protéines de cette jonction, modifier la morphologie des cellules et leur adhérence les unes avec les autres. Ces transformations résultent de la phosphorylation de la caténine bêta et, à un moindre degré, de celle de la cadhérine E et de la caténine α .

D. Desmosomes

1. Définition

Les desmosomes sont des jonctions intercellulaires d'ancrage, probablement les plus complexes et les plus différenciées, unissant généralement deux cellules épithéliales ; ces jonctions sont caractérisées par des plaques denses de protéines dans lesquelles s'insèrent les filaments intermédiaires des deux cellules adjacentes (fig. 8.8).

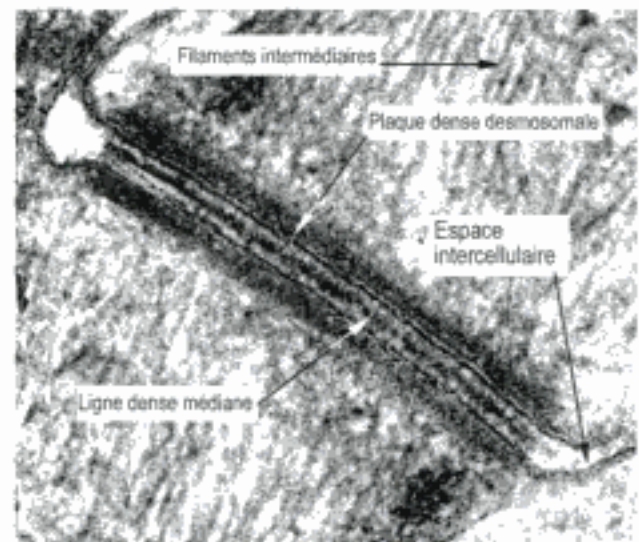


Fig. 8.8
Desmosome.

2. Localisation

Leur localisation est principalement épithéliale (ils existent aussi dans les endothéliums et les mésothéliums) : ils se disposent à des intervalles plus ou moins réguliers le long des limites cellulaires des cellules épithéliales et des cellules musculaires. Ils résistent aux habituels agents de dissociation, aux agents chélatants du calcium comme l'urée, le mercaptol.

3. Structure en microscopie électronique à transmission (fig. 8.9)

a. Forme et dimensions

Les desmosomes ont la forme de disques ovalaires, avec un grand diamètre de 400 à 500 nm et un petit diamètre de 190 nm.

b. Plaque desmosomale

La plaque desmosomale est une plaque dense, intracytoplasmique, située au voisinage de la membrane de chacune des cellules qui intervient dans la constitution des desmosomes. Les plaques desmosomales sont disposées de manière symétrique par rapport au plan médian du desmosome. Elles ont une *structure lamellaire*. Les lamelles sont parallèles à la surface cellulaire et associées les unes aux autres dans une matrice homogène. Elles servent d'ancrage à des filaments intermédiaires qui s'allongent dans le cytoplasme.

c. Filaments intermédiaires

Les filaments intermédiaires, d'un diamètre de 10 nm, s'insèrent sur la face cytosolique des plaques desmosomales. Ces filaments intermédiaires traversent la cellule. Ils relient les faces internes des desmosomes situés sur les côtés opposés de la cellule. Les desmosomes sont particulièrement nombreux dans les tissus soumis à des contraintes mécaniques tels que la peau et le col de l'utérus. Le réseau de filaments intermédiaires, en forme de cordes, confère une continuité structurale et une force de tension à l'ensemble de l'assise cellulaire.

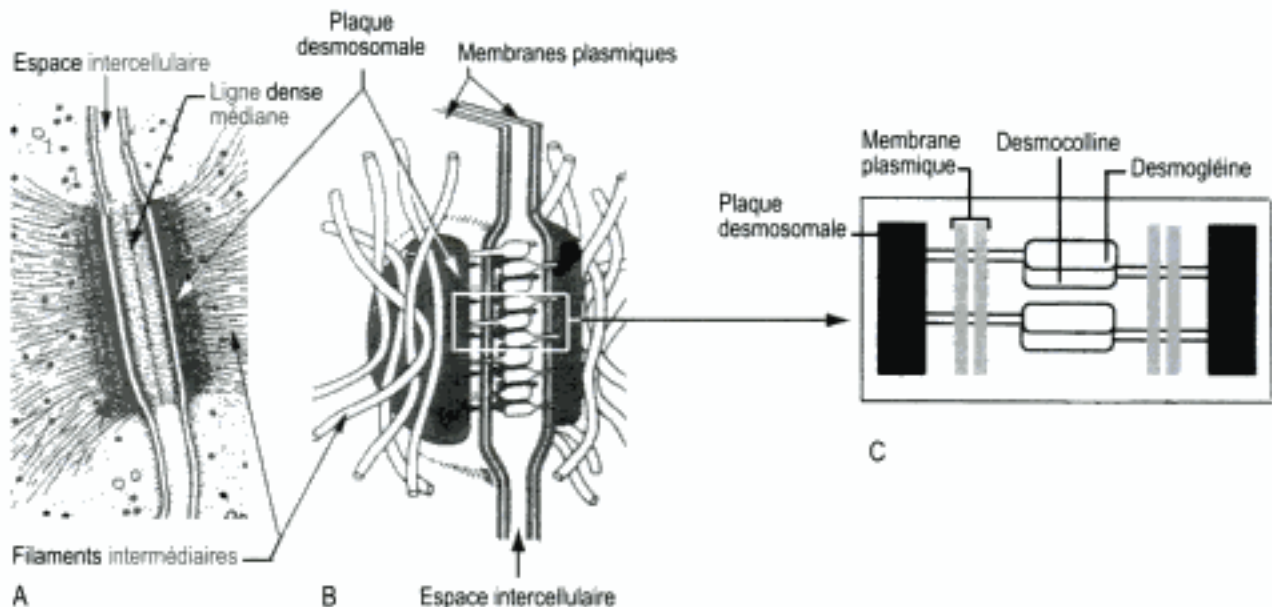


Fig. 8.9

Desmosome.

A. Représentation schématique d'un desmosome. (In : Krstic. *Ultrastructure of the mammalian cell*. Springer Verlag, 1976.)

B et C. Organisation moléculaire. **B.** Les filaments intermédiaires de cytokératine dessinent une boucle dans la plaque desmosomale.

C. Disposition de la desmocolline et de la desmoglérine dans l'espace intercellulaire.

d. Espace intercellulaire, la desmoglée

Les membranes plasmiques des cellules qui sont unies par un desmosome (membranes desmosomales) sont séparées par l'espace intercellulaire ou *desmoglée* de 20 à 35 nm d'épaisseur : elle peut atteindre 50 nm dans les desmosomes hautement différenciés. Cet espace contient un matériel peu dense constitué par de fins filaments représentant des glycoprotéines, la *desmogléine* et la *desmocolline* qui sont des molécules transmembranaires d'adhésion appartenant au groupe des *cadhérines*. Une lamelle centrale dense, inconstante, traverse cet espace à équidistance des membranes cellulaires. Elle apparaît soit comme une ligne continue, soit comme une ligne interrompue à des intervalles réguliers par un espace clair peu important.

4. Organisation moléculaire

a. Domaine extracellulaire des cadhérines

Au centre de l'espace intercellulaire, les molécules de cadhérine s'associent les unes aux autres, par un mécanisme dépendant du Ca^{++} . La lamelle centrale, continue ou interrompue, représente la région occupée par les terminaisons du domaine extracellulaire des cadhérines et par le calcium.

b. Domaines cytoplasmiques des cadhérines

Les *cadhérines*, après avoir traversé la membrane plasmique, gagnent la plaque dense cytoplasmique où elles interagissent avec les *plakoglobines* (caténine γ) qui sont associées aux *desmoplakines* par des ponts disulfures (liaisons fortes).

Les molécules de cadhérine s'associent aussi aux caténines comme dans les jonctions intermédiaires. La formation de complexes caténine-cadherine joue un rôle essentiel dans l'adhérence intercellulaire dépendant des cadhérines : les caténines agiraient sur le domaine extracellulaire des cadhérines.

c. Plaque desmosomale

La plaque desmosomale est un mélange de protéines d'ancrage intracellulaire. Elle contient :

- des molécules de *plakoglobine*, de *desmoplakine* I et II (homologue de la caténine γ) et des protéines homologues IFAP (*Intermediate Filament-Associated Protein* ; protéine associée au filament intermédiaire) et la plectine ;
- la protéine *B6P* (*Band 6 Polypeptide* ; polypeptide bande 6), protéine non glycosylée, porteuse de charges positives, constituant majeur de la plaque desmosomale dans les épithéliums glandulaires et dans les épithéliums stratifiés.

d. Mode d'insertion des filaments intermédiaires

Les IF s'insèrent sur les molécules de *desmoplakine*. L'extrémité carboxyterminale de la molécule de desmoplakine est liée au réseau des IF, tandis que l'extrémité aminotermine commande l'association de la desmoplakine avec la plaque desmosomale.

e. Nature des filaments intermédiaires

Ces IF, en fonction du type cellulaire étudié, sont :

- des filaments de cytokératine (cellules épidermiques) : dans les cellules épithéliales de l'épiderme, ils servent d'ancrage aux filaments de cytokératine disposés en faisceaux qui relient tous les desmosomes les uns aux autres ;
- des filaments de desmine (cellules du muscle cardiaque).

5. Fonctions

a. Augmentation de la solidité des épithéliums

Les desmosomes associent fermement les cellules les unes aux autres et maintiennent leur forme. De plus, la disposition des desmosomes et des filaments intermédiaires augmente la résistance en répartissant les tensions à travers l'ensemble de la ou des couches cellulaires. Les desmosomes sont nombreux dans les tissus comme l'épiderme, le cœur, le muscle, qui sont soumis à de grandes forces mécaniques.

b. Activation des protéines G monomériques

Les desmosomes jouent aussi un rôle dans plusieurs voies de transmission des signaux intercellulaires. Les molécules d'adhésion transcellulaire, en s'associant, activent les protéines G monomériques voisines des plaques desmosomales et induisent la formation de signaux intracellulaires. Par exemple, en culture, les IF purifiés de cytokératine se lient à B6P, une protéine qui intervient dans l'organisation des filaments intermédiaires des cellules épidermiques.

c. Facteur de transcription

Des molécules protéiques constituant les desmosomes interviennent comme des facteurs de transcription après avoir traversé le cytoplasme et gagné le noyau. Elles déclenchent la synthèse de molécules intervenant dans la constitution de ces jonctions.

6. Pathologie liée aux desmosomes

a. Maladies acantholytiques

Les maladies acantholytiques sont des maladies de l'épiderme, dues à une perte de cohésion des kératinocytes soit entre eux, soit avec la lame basale. Ces affections se caractérisent par la formation de « bulles » intra-épithéliales. La disparition des desmosomes épidermiques en est la cause.

Dans la dermatose bulleuse, la désorganisation des desmosomes est provoquée par la destruction des desmoplakines par des autoanticorps. Dans le pemphigus vulgaire (maladie mortelle traitée par corticothérapie), des anticorps anti-Dsg1 et anti-Dsg3 (anti-desmoglobine) détruisent les desmosomes.

b. Cancérogenèse épithéliale

Les desmosomes auraient un rôle suppresseur des tumeurs épithéliales. Dans la majorité des cancers, les cadhérines et les caténines sont en effet

modifiées : la mutation d'un seul acide aminé dans les molécules de cadhérine abolit leur liaison à la caténine et modifie l'adhésivité qui dépend de la cadhérine.

De plus, le niveau d'expression de la cadhérine E est souvent réduit dans de nombreux cancers épithéliaux (œsophage, thyroïde, poumon, sein, estomac, foie, rein, pancréas, côlon, vessie, prostate et tractus génital féminin). Il existe une relation entre un taux bas de cadhérine E et la malignité de ces tumeurs. *In vitro*, la restauration d'une concentration normale de cadhérine inhibe la cancérogenèse des cellules épithéliales ainsi que leur aptitude à envahir les tissus voisins. Ces cellules sécrètent moins de protéases. La diminution de l'expression du gène de la plakoglobine est fréquente dans les cancers pulmonaires. La transfection de la plakoglobine peut supprimer la tumorigénicité des cellules en présence ou en l'absence du complexe cadhérine-caténine. Une baisse de la synthèse des desmoglérines, desmoplakines et desmocollines est associée à une perte de la différenciation et aux métastases dans les cancers de la cavité buccale.

La réduction des divers composants desmosomaux dans des cancers humains indique que les desmosomes ont un rôle suppresseur des tumeurs. Toutefois, dans d'autres tumeurs, comme le cancer colorectal, l'invasion et les métastases n'impliquent pas une perte de l'expression des desmosomes.

VI. Les jonctions communicantes

A. Définition

Les jonctions communicantes (*gap junctions* ou jonctions lacunaires) sont des régions spécialisées des membranes de deux cellules adjacentes, qui se caractérisent essentiellement par un rapprochement des deux membranes, la présence de connexons (canaux transmembranaires qui font communiquer les compartiments cytoplasmiques de deux cellules) et un espace intercellulaire perméable. Elles assurent le transfert d'informations.

B. Structure

1. Membranes de la jonction

Elles sont séparées par l'espace intercellulaire d'une épaisseur de 2 à 3 nm. Les jonctions communicantes comprennent donc sept feuillets : les trois feuillets (deux sombres et un clair) de chacune des membranes cellulaires et l'espace intercellulaire (fig. 8.10).

Très souvent, les deux feuillets externes sont si rapprochés qu'il n'est pas possible de les distinguer. Il serait possible, dans ces conditions, de confondre une jonction communicante avec une jonction serrée. L'insuffisance de la simple morphologie pour les identifier contraint le biologiste à l'utilisation des traceurs des espaces intercellulaires.

Le *nitrate de lanthane* est opaque au rayonnement : en solution il pénètre dans les plus petits espaces intercellulaires d'un tissu qu'il baigne. Il met en évidence les jonctions serrées grâce à leur imperméabilité au traceur, tandis que les jonctions communicantes le laissent passer par de minuscules espaces situés dans le feuillet médian.

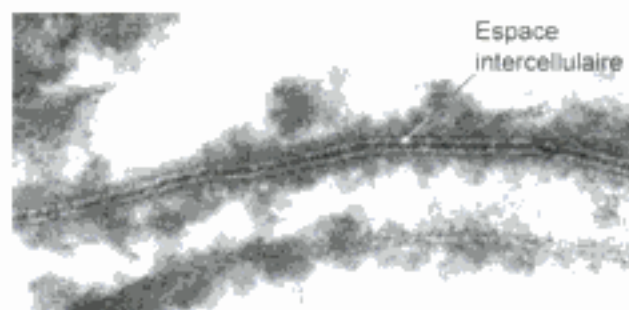


Fig. 8.10

Jonction communicante ($\times 170\,000$).

Un espace perméable à un traceur (ici la peroxydase) est coloré intensément en noir.

Cliché de Goodenough D.A. et Revel J.P.,
J Cell Biol 1971 ; 50 : 81-91.

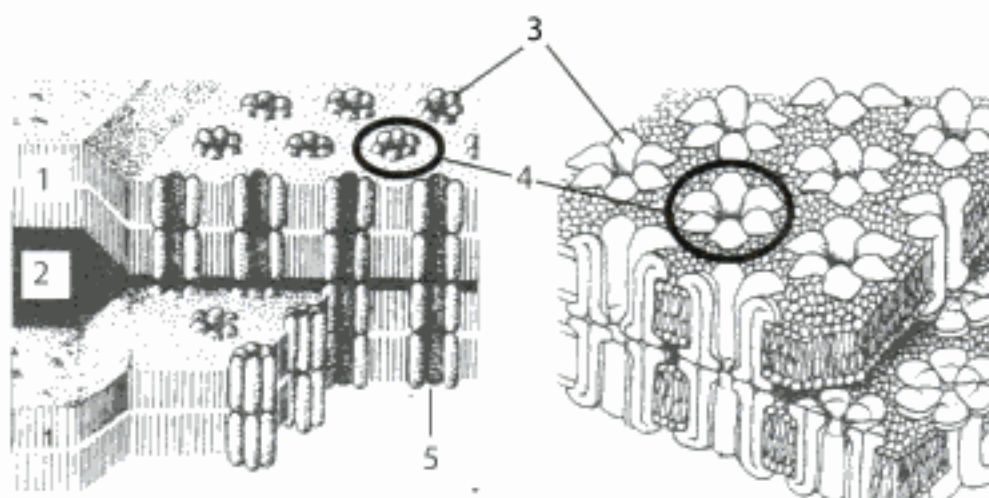


Fig. 8.11

Jonction communicante.

1. Membrane plasmique. 2. Espace intermembranaire. 3. Molécule de connexon. 4. Connexon. 5. Canal d'un connexon.

2. Canaux transmembranaires

Les membranes adjacentes qui appartiennent aux jonctions communicantes sont traversées par un nombre variable de canaux transmembranaires ou *connexons* (de quelques-uns à plusieurs milliers). Chez les mammifères, ces canaux ont une longueur de 10 nm et un diamètre de 1,2 nm (fig. 8.11).

C. Organisation moléculaire

1. Connexines

Chacune des membranes cellulaires contient des protéines possédant quatre hélices intramembranaires qui appartiennent à la famille des connexines. Les vertébrés possèdent une vingtaine de gènes qui codent des isoformes : chacune de ces isoformes est désignée par les lettres Cx suivies d'un nombre qui correspond à leur poids moléculaire, lequel peut être compris entre 26 et 60 kDa. Par exemple, les connexines 40 kDa (Cx40) sont les connexines des fibres de Purkinje du tissu nodal cardiaque, les connexines Cx43 celles des cellules musculaires cardiaques. Les membranes des jonctions communicantes ne contiennent pas d'autres protéines que les connexines.

2. Connexons

a. Structure

Les connexons sont constitués par l'association de six molécules de connexine qui forment un canal aqueux traversant la bicouche lipidique. Chaque connexon, dans l'espace intercellulaire, s'apparie avec un connexon situé dans la membrane de la cellule voisine. Ces deux connexons appariés forment un canal aqueux qui traverse les deux bicouches lipidiques.

■ Les invertébrés possèdent des jonctions communicantes constituées par des protéines transmembranaires différentes dénommées innexines.

b. Assemblage des connexons

Les connexons sont assemblés après la synthèse des polypeptides de connexine dans le REG, avant leur arrivée à la membrane plasmique. Au cours de la formation des jonctions communicantes, les domaines extracellulaires des sous-unités protéiques des connexons d'une membrane plasmique interagissent avec ceux d'une membrane plasmique adjacente et s'unissent. Les connexons s'organisent en réseaux hexagonaux dans le plan de la bicouche lipidique.

c. Appariement des connexons

Généralement, les connexons qui s'apparient sont absolument identiques : les canaux sont alors homotypiques. Les jonctions communicantes qu'ils constituent laissent passer les molécules dans les deux sens. Lorsqu'ils sont hétérotypiques, ils laissent passer des molécules plus facilement dans un sens que dans l'autre, comme cela peut s'observer dans les fentes synaptiques où le passage de l'influx électrique ne se fait que dans un seul sens.

3. Localisation des jonctions communicantes

Les études réalisées en microscopie à épifluorescence à l'aide d'anticorps fluorescents ont permis de localiser des jonctions communicantes dans l'épiderme, les cellules glandulaires endocrines et exocrines, les entérocytes, les cellules des voies urinaires, les cellules osseuses, les cellules musculaires lisses, certaines cellules de la névroglie (les astrocytes) et quelques neurones. Les leucocytes peuvent temporairement établir des jonctions communicantes avec les cellules des endothéliums vasculaires.

D. Mode de fonctionnement des connexons

1. Incompatibilité des connexines

Les connexines diffèrent dans leur aptitude à former des jonctions communicantes hétérotypiques chez l'Homme. Par exemple, les Cx40 (cellules de Purkinje) et les Cx43 (myocytes cardiaques) n'interagissent pas alors qu'elles peuvent former des canaux actifs avec d'autres connexines. La membrane plasmique des fibres de Purkinje contient des Cx40, tandis que le tissu musculaire cardiaque qui les entoure exprime Cx43. L'incompatibilité Cx40/Cx43 contraint les fibres de Purkinje (système de conduction cardiaque) à ne se coupler qu'entre elles, assurant la permanence de la conduction.

2. Destruction et renouvellement

Elles sont détruites par autophagie. Le renouvellement des jonctions communicantes (synthèse et réparation) est rapide : la demi-vie d'une jonction communicante est de 24 heures.

3. Nombre des connexons et perméabilité

Il existe une proportionnalité entre la quantité de molécules passant d'une cellule à une autre et le nombre de jonctions communicantes. Au repos, leur nombre diminue. Un signal transmis à travers les jonctions communicantes peut être modulé par de nombreuses molécules et par de nombreuses conditions physiologiques.

4. Fermeture et ouverture des connexons

La baisse du *pH*, l'augmentation de la concentration du Ca^{++} cytoplasmique, la *phosphorylation* des molécules de *connexine* diminuent la perméabilité des jonctions communicantes en fermant totalement ou partiellement le connexon. La fermeture se fait par rotation et glissement des sous-unités. Si les facteurs responsables s'inversent (hausse du *pH*, baisse de calcium, etc.), les connexons s'ouvrent.

Les molécules de connexine possèdent un *site récepteur* de la *calmoduline* (un protomère faisant partie des ATPases de la membrane plasmique), protéine de régulation, capable de fixer quatre atomes de Ca^{++} . Certaines molécules comme l'oléamide, un amide gras synthétisé, bloquent les jonctions communicantes.

La différence de potentiel transjonctionnelle contrôle l'ouverture des connexons : ce mécanisme est sans relation avec le potentiel de membrane.

Le *glucagon* (hormone pancréatique qui stimule la dégradation du glycogène des cellules hépatiques et la libération du glucose) augmente la perméabilité des jonctions communicantes et facilite ainsi le passage de l'AMPc d'une cellule à l'autre dans les cellules hépatiques. Très rapidement, la glycogénolyse se déroule dans toutes les cellules unies par des connexons, ce qui accroît l'excrétion du glucose dans des délais très brefs.

E. Fonction des jonctions communicantes

Les connexons sont des filtres de séparation selon le volume : ils assurent la diffusion de molécules hydrophiles. Ces jonctions communicantes permettent aux cellules qu'elles unissent de fonctionner à la manière d'un syncytium comme cela se produit dans le muscle cardiaque, un épithélium, des cellules musculaires lisses, etc.

1. Transmission intercellulaire de l'information

Ces jonctions permettent le passage de molécules hydrophiles dont le PM est inférieur à 1,5 kDa, par exemple des seconds messagers, du calcium, des molécules d'inositol triphosphate, d'adénosine monophosphate cyclique, de nucléotides d'oses, d'ions, d'acides aminés...

Le passage :

- des ions se fait en fonction du gradient électrophysiologique ; ce passage d'ions assure une homogénéité électrochimique entre les cellules ;

- des seconds messagers (AMPC) permet d'établir un réseau commun d'information.

2. Coopération métabolique intercellulaire

Cette transmission de l'information, réalisée par les jonctions communicantes, établit une coopération métabolique intercellulaire. En effet, les relations intercellulaires, dépendant des jonctions communicantes, aboutissent à la formation d'un compartiment géant, dans lequel les molécules suffisamment petites peuvent se déplacer. Les conséquences physiologiques sont très importantes : de nombreuses molécules régulatrices très actives, comme l'AMPC et d'autres messagers secondaires, peuvent passer. Les jonctions communicantes transforment un tissu en une unité fonctionnelle dont chacune des cellules peut réagir simultanément. Une stimulation directe d'un seul groupe cellulaire est transmise à la totalité du tissu qu'elles constituent.

Ces jonctions permettent également aux cellules de coopérer métaboliquement en se répartissant des métabolites essentiels comme l'ATP, les sucres phosphatés, les acides aminés et de nombreuses coenzymes, qui sont suffisamment petites pour passer par ces canaux intercellulaires.

3. Modulation du nombre de jonctions communicantes

Le nombre des jonctions communicantes dépend de l'état physiologique du tissu auquel elles appartiennent. Les jonctions communicantes couplent par exemple les cellules musculaires lisses du myomètre (ensemble des couches musculaires de la paroi utérine). Peu de temps avant l'accouchement, le nombre des jonctions communicantes augmente considérablement, grâce à une élévation des Cx43 qui constituent les jonctions communicantes du myomètre. Les connexons, plus nombreux, assurent une bonne coordination de la contraction des cellules musculaires lisses au moment de l'accouchement.

4. Pathologies associées à la connexine

Les altérations ou l'absence de connexine entraînent des comportements cellulaires pathologiques.

a. Maladies génétiques

Les mutations de gènes codant les connexines induisent des maladies génétiques. La *mutation de Cx32* portée par le chromosome X est une neuropathie humaine héréditaire : la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT), caractérisée par une atrophie musculaire, une perte des réflexes tendineux. Elle atteint 1 enfant sur 2 500. Cette mutation est à l'origine d'une atteinte des gaines de myéline. Ce syndrome de démyélinisation est associé à des lésions de la gaine de Schwann. Une *mutation de Cx43* provoque des malformations cardiaques (hétérotaxie viscéro-atriale).

Une *mutation récessive du gène Cx26* (une personne sur 30 en est porteuse) provoque une surdité héréditaire chez l'homme, qui apparaît avec le vieillissement : le transport du potassium dans les cellules de Deiters (cellules de soutien des cellules auditives) n'est plus assuré correctement.

■ Une hypothèse récente suggère que les connexines jouent non seulement un rôle de modulateurs de la communication intercytoplasmique mais aussi celui de régulateurs de la prolifération cellulaire.

b. Tumorigenèse

L'inhibition de contact est cette propriété, que possèdent les cellules normales, d'interrompre tout mouvement membranaire et toute mitose lorsque, dans une culture, elles entrent en contact les unes avec les autres. Les cellules cancéreuses en culture demeurent indépendantes les unes des autres et continuent à se multiplier et à migrer. Elles ne possèdent plus cette propriété d'inhibition de contact. Cette autonomie des cellules cancéreuses dépend de l'absence d'échange d'information intercellulaire, car de telles cellules ne possèdent pas de jonctions communicantes. Cependant, il est possible de rétablir temporairement (pendant 24 heures) des jonctions communicantes en introduisant dans une culture de cellules cancéreuses, appartenant à la lignée K, des liposomes contenant un ARNm porteur des informations nécessaires à la biosynthèse de la connexine : l'inhibition de contact réapparaît pendant 24 heures.

VII. Les complexes de jonction

Un complexe de jonctions (par exemple dans l'épithélium intestinal) (fig. 8.12) est un ensemble de jonctions constitué par :

- une *jonction occlusive*, la plus proche de la lumière intestinale (elle a la structure pentalamellaire précédemment décrite ; elle entoure la partie apicale de chaque cellule) ;
- une *jonction intermédiaire* qui lui fait suite (l'espace intercellulaire, d'une largeur de 20 nm, est occupé par un matériel peu dense, homogène ; il ceinture également la cellule) ;
- un *desmosome* qui occupe la partie la plus profonde du complexe de jonctions. L'ensemble jonction serrée/jonction intermédiaire forme le *cadre cellulaire* visible en microscopie optique.

Ces complexes de jonctions unissent le plus souvent les cellules prismatiques : ils s'observent surtout dans l'épithélium intestinal, mais aussi dans d'autres types d'épithéliums comme les épithéliums glandulaires (foie).

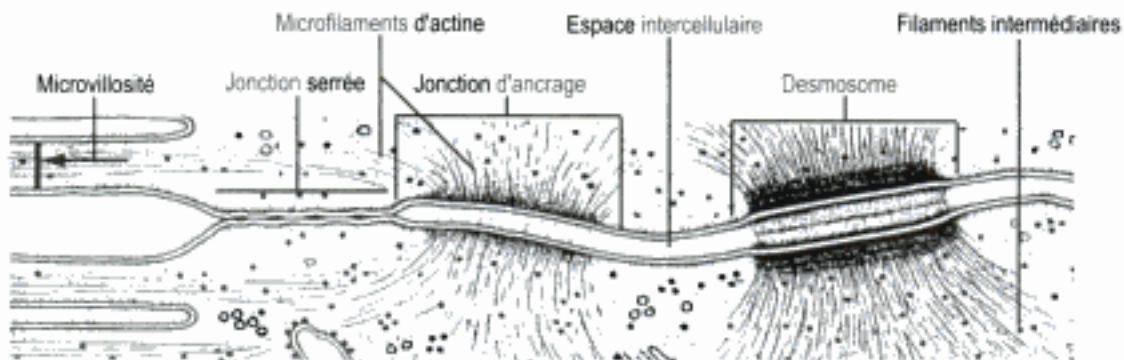


Fig. 8.12

Complexe de jonctions unissant deux entérocytes.

In : Krstic, *Ultrastructure of the mammalian cell*. Springer Verlag, 1976.

VIII. Les hémidesmosomes

A. Définition

Un hémidesmosome (HD) est un type de jonction adhérente qui unit le pôle basal des cellules épithéliales à la lame basale et au chorion ou à la matrice extracellulaire.

B. Structure

Un hémidesmosome est une zone de jonction asymétrique entre une cellule et la lame basale. La structure des hémidesmosomes est variable selon le type d'épithélium considéré, mais quel qu'il soit, on peut, comme pour les desmosomes, distinguer des composants cellulaires extracellulaires et des composants intracellulaires.

1. Forme

Ils sont ovalaires, leur grand diamètre mesurant 200 nm.

2. Composants cellulaires

La partie cellulaire contient (fig. 8.13) :

- des *fibres cytoplasmiques* (filaments de cytokératine pour les cellules basales de l'épiderme) qui pénètrent dans la plaque cytoplasmique vers laquelle elles convergent ;
- la *plaque cytoplasmique* (plaque de fixation ou d'ancrage des microfilaments) d'une épaisseur de 30 nm, adhérant à la face cytosolique de la membrane plasmique basale ; sa structure est lamellaire.

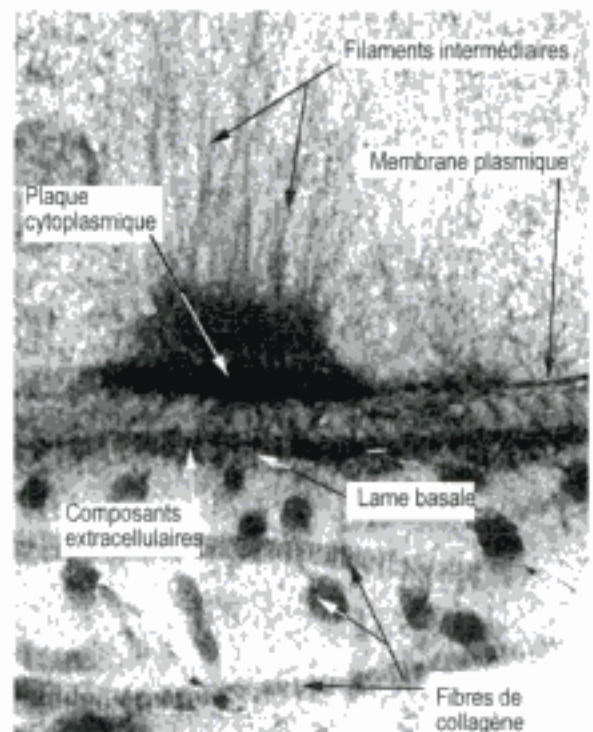


Fig. 8.13
Hémidesmosome.

3. Composants extracellulaires

À partir de la membrane cellulaire basale se succèdent :

- une zone claire de 10 nm de large, occupée en son milieu par une ligne dense reliée à la membrane par un matériel filamenteux ;
- une zone dense de 6 nm d'épaisseur ;
- une zone claire de 25 à 30 nm d'épaisseur, parcourue par de nombreux filaments (laminine) qui viennent de la lame basale ;
- la lame basale de 40 nm d'épaisseur, contenant des fibrilles qui appartiennent aux faisceaux venus du chorion ; ces faisceaux sont formés par les fibrilles dites d'ancrage (*anchoring fibrils*), fibrilles de 3 nm de diamètre.

4. Organisation moléculaire

Les filaments intermédiaires pénètrent dans la plaque cytoplasmique qui contient de nombreuses molécules de protéines et en particulier de *plectine* et des antigènes de la pemphigoïde bulleuse *BPAG2* (*Bullous Pemphigoid Antigen* ; antigène de la pemphigoïde bulleuse) aussi désigné par les termes de *collagène XVII* (ou *BP180*).

Ce collagène constitue des filaments d'ancrage entre la lame basale et la membrane plasmique.

La plaque basale contient également l'extrémité des molécules d'intégrine $\alpha_6\beta_4$ et de *BPAG1* ou *BP230* (molécule apparentée à la desmoplakine). Dans la plaque cytoplasmique, la *plectine* se lie aux filaments intermédiaires par une extrémité, et à l'intégrine par l'autre extrémité. *BPAG1* unirait de même les filaments intermédiaires et l'intégrine (fig. 8.14).

Les molécules de laminine 5 disposées en un réseau situé dans la lamina lucida unissent les molécules d'intégrine au collagène IV de la lame basale.

Le collagène IV et les laminines sont connectés par des molécules d'entactine (nidogène). La lame basale est reliée au chorion (conjonctif sous-jacent) par des *fibres de collagène VII* par une extrémité sur la lame basale et par l'autre sur des structures appelées plaques d'ancrage qui ressemblent à la lame basale (voir chapitre 3, « Lames basales », p. 77, et chapitre 9, « Points de contacts focaux », p. 178).

5. Pathologie liée aux hémidesmosomes

L'*épidermolyse bulleuse* acquise est provoquée par la disparition des hémidesmosomes (les bulles se forment par décollement de l'épithélium de la lame basale).

Le *pemphigus* est une maladie auto-immune très grave, caractérisée cliniquement par des bulles qui se forment par clivage dans le corps muqueux de Malpighi. Ces bulles donnent naissance à des érosions confluentes. Elle est provoquée par la sécrétion d'autoanticorps anti-plectine.

L'intégrine $\alpha_6\beta_4$ est indispensable à l'assemblage et à la formation des hémidesmosomes : son absence provoque une fragilité cellulaire et un clivage de l'épiderme au niveau de la jonction dermo-épidermique. Les souris dont l'intégrine est dépourvue de la *sous-unité* β_4 sont atteintes de lésions bulleuses généralisées et meurent immédiatement après la naissance. Il n'y a pas d'hémidesmosome : il existe un clivage dermo-épider-

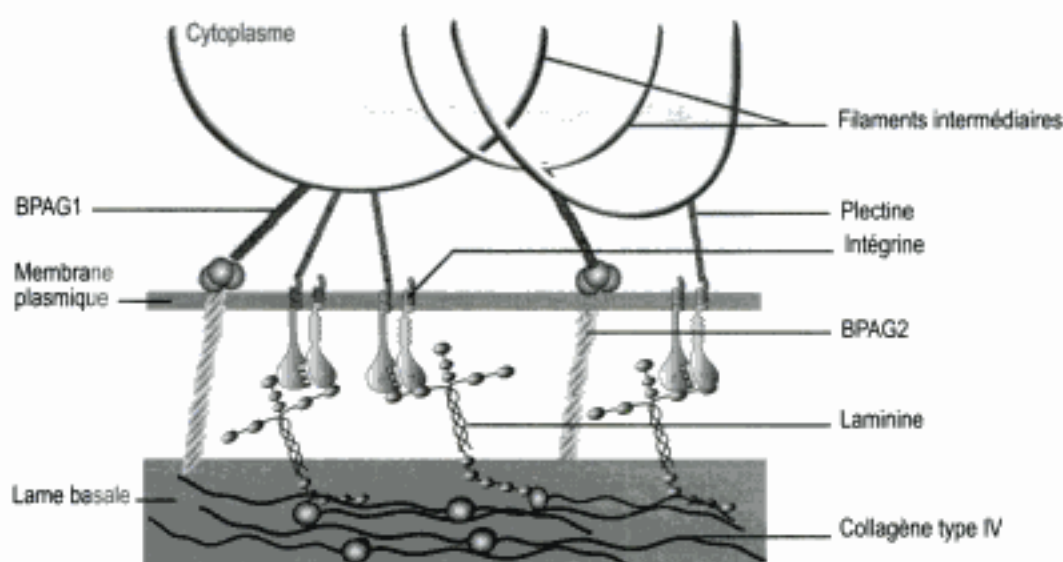


Fig. 8.14

Organisation moléculaire des hémidesmosomes.

Redessiné d'après T. D. Pollard.

Les molécules de plectine et de BPAG1 unissent les molécules d'intégrine et de BPAG2 aux filaments intermédiaires. Les molécules de laminine s'ancrent par une extrémité au collagène IV et se lient par l'autre extrémité aux molécules d'intégrine. Les fibres d'ancrage au chorion (collagène VII) ne sont pas représentées.

mique situé entre les cellules basales et la lamina lucida. Il en est de même pour les souris dépourvues de la sous-unité $\alpha 6$ de l'intégrine. De nombreux signaux venus du milieu extracellulaire sont transmis au milieu intracellulaire par l'intermédiaire des intégrines. Par exemple, la liaison des cellules aux laminines influence profondément leur phénotype. Ainsi, la laminine 5, extraite d'un carcinome de l'épithélium vésical de rat, provoque l'assemblage des hémidesmosomes, l'adhésion des cellules et leur migration. En l'absence de BP230, les HD sont pratiquement normaux mis à part l'absence d'ancrage des IF du cytosquelette et de la plaque cytoplasmique. La croissance épithéliale est normale : mais l'intégrité mécanique est compromise.

POINTS CLÉS

- Les *jonctions occlusives* obturent complètement l'espace intercellulaire : elles sont caractérisées par la présence, sur chacune des membranes qui s'affrontent, de rangées de protéines intramembranaires qui s'associent étroitement les unes avec les autres. Ces jonctions sont de type zonulaire : elles font le tour complet des cellules.
- Les *jonctions adhérentes* qui font le tour de la cellule et les *desmosomes ovalaires* sont responsables des adhérences fortes entre les cellules : ces jonctions sont assurées par les molécules d'adhérence, les cadhérines. Ils sont caractérisés par l'abondance du matériel intercellulaire et des plaques cytoplasmiques collées ou non sur la face interne de chacune des membranes plasmiques du desmosome. Les cadhérines interviennent dans la liaison entre le matériel extracellulaire et les filaments intermédiaires ou les MF d'actine.
- Les *jonctions communicantes* (septalamellaires) assurent des échanges intercellulaires de molécules informatives, établissent une coopération fonctionnelle et métabolique par l'intermédiaire des connexons dont la perméabilité est contrôlée (pH, concentration en calcium, phosphorylation des molécules de connexine). L'altération de ces jonctions par mutation des connexines est à l'origine de la maladie de Charcot-Marie-Tooth ou de malformations cardiaques. Leur disparition conditionne l'absence d'inhibition de contact.
- Les *hémidesmosomes* assurent la jonction de la cellule épithéliale basale sur le collagène IV des lames basales par l'intermédiaire de molécules de laminine qui s'ancrent par une extrémité au collagène IV et se lient par l'autre extrémité aux molécules d'intégrine transmembranaires : ces dernières s'associent à la plectine qui interagit avec les filaments intermédiaires de kératine (voir les points d'adhérence focaux, fig. 9.12).

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Les jonctions

- ☐ A. Sont toujours associées à un réseau cytosquelettique.
- ☐ B. Provoquent des modifications de l'épaisseur de l'espace intercellulaire.
- ☐ C. Peuvent provoquer des modifications de l'aspect de l'espace intercellulaire.
- ☐ D. Sont exclusivement sous forme de ceinture.
- ☐ E. Peuvent se regrouper pour donner des systèmes de jonctions plus complexes.

2. Les jonctions d'ancrage, certaines d'entre elles

- ☐ A. Peuvent être associées au réseau de filaments intermédiaires.
- ☐ B. Peuvent être associées au réseau de microfilaments d'actine.
- ☐ C. Peuvent être associées au réseau de microtubules.
- ☐ D. Peuvent être associées des cellules avec la matrice.
- ☐ E. Sont exclusivement de forme ovale ou circulaire.

3. Les desmosomes

- ☐ A. Les cadhérines sont les protéines transmembranaires responsables du processus d'adhésion du desmosome.
- ☐ B. Les desmoplakines sont les protéines transmembranaires responsables du processus d'adhésion du desmosome.
- ☐ C. L'association des cadhérines les unes aux autres est dépendante du Ca^{++} .
- ☐ D. Les desmosomes se caractérisent par une plaque protéique, la plaque desmosomale, sur la face extracellulaire de la membrane.
- ☐ E. Sont exclusivement épithéliaux.

4. Les jonctions communicantes

- ☐ A. Sont des canaux transmembranaires constitués de cinq connexines.
- ☐ B. Permettent une communication directe des deux cytoplasmes.
- ☐ C. Laissent passer des protéines d'une cellule à l'autre.
- ☐ D. La fermeture des canaux est provoquée par un glissement des différentes connexines.
- ☐ E. La phosphorylation augmente la perméabilité des canaux.

5. Les jonctions serrées

- ☐ A. Empêchent la diffusion des composants membranaires dans le plan membranaire.
- ☐ B. Ferment de façon étanche l'espace intercellulaire.
- ☐ C. Les protéines ZO1 et ZO2 sont les protéines transmembranaires responsables des contacts entre les deux cellules.
- ☐ D. Ne laissent passer que les ions.
- ☐ E. Apparaissent tardivement lors de l'embryogenèse lors de la différenciation des épithéliums.

6. Les hémidesmosomes

- ☐ A. Sont dépourvus de plaque desmosomale, sur la face intracellulaire de la membrane.
- ☐ B. Sont associés aux filaments intermédiaires.
- ☐ C. Sont associés aux filaments d'actine.
- ☐ D. Interagissent avec les lamines.
- ☐ E. Contiennent de la desmoglérine.

QROC

1. Quelle est la taille maximale des molécules passant par les connexons ?
2. Quels sont les principaux facteurs intervenant sur l'ouverture des connexons ?
3. Quelles sont les différences biochimiques et fonctionnelles entre des connexons homotypiques et hétérotypiques ?
4. Qu'est-ce que la desmoglérine ?

5. Citer les molécules responsables de l'ancrage des desmosomes.
6. Citer les molécules responsables de l'ancrage des jonctions adhérentes.
7. De quoi sont composés les complexes jonctionnels ?

Pour les corrections, se reporter à la page 578

Le cytosquelette

- I. Définition
- II. Les microfilaments d'actine du cytosquelette
- III. L'actine des fibres musculaires striées
- IV. Les filaments intermédiaires
- V. Les microtubules

La mobilité cellulaire, les mouvements de certains organites dans la cellule ont trouvé leur explication lorsque furent isolées, en 1965 par Wolfe, des structures cylindriques creuses (baptisées microtubules en 1963 par Slautterback) qui avaient été observées pour la première fois dans le fuseau mitotique par De Harven et Bernhard en 1956. Peu après, les protéines, motrices ou non, qui leur sont associées furent découvertes, ainsi que les microfilaments non contractiles (les filaments intermédiaires), les protéines contractiles universelles, l'actine et la myosine (isolées en 1966) et les protéines associées.

Le cytosquelette est une structure constituée par des filaments non spécifiques (communs à toutes les cellules), des microfilaments d'actine, des filaments intermédiaires spécifiques de certaines cellules (GFAP [*Glial Fibrillary Acidic Protein* ; protéine acide des cellules gliales], cytokératine des tissus épithéliaux, neurofilaments des tissus nerveux) et des microtubules formés de tubuline α et β .

Tous ces éléments n'ont pas uniquement un rôle de squelette : en association avec d'autres protéines, ils assument d'autres fonctions, telles que des mouvements de déplacement, et ils possèdent des facultés très importantes d'adaptation.

I. Définition

Le cytosquelette est l'ensemble des éléments, *microfilaments* d'actine, *microtubules*, *filaments intermédiaires*, responsables de la forme interne et externe de la cellule, des mouvements cellulaires et du transport de différents organites ou vésicules à l'intérieur de la cellule, associés à des protéines accessoires (*protéines de liaison*) qui lient les fibres soit les unes aux autres, soit à la membrane plasmique, soit à d'autres structures cellulaires.

II. Les microfilaments d'actine du cytosquelette

A. Définition

Les MF du cytosquelette, d'un diamètre compris entre 6 et 8 nm, sont des *polymères de l'actine*. Ils sont ubiquitaires chez les eucaryotes : ils existent dans presque toutes les cellules.

B. Généralités

Ils subissent des modifications rapides (polymérisation, dépolymérisation) qui dépendent de l'activité physiologique de la cellule et des signaux que la cellule reçoit. L'actine, qui constitue ces MF, représente 5 % des protéines des cellules non musculaires et 20 % dans les cellules musculaires. En effet, les MF entrent d'une manière permanente dans la constitution des myofibrilles des cellules musculaires lisses et des fibres musculaires striées où ils ne sont pas soumis à des alternances rapides de polymérisation et de dépolymérisation. Les techniques de coloration par des anticorps fluorescents anti-actine mettent facilement en évidence des faisceaux de microfilaments dans le cytoplasme des cellules non musculaires (fig. 9.1).

Les éléments qui constituent ces faisceaux sont visibles en microscopie électronique (fig. 9.2).

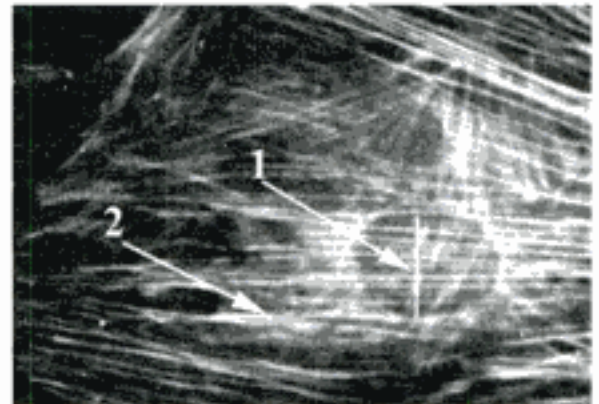


Fig. 9.1

Les faisceaux de MF.

Mise en évidence par l'utilisation d'anticorps anti-actine marqués par un colorant fluorescent (E. Lazarides et K. Weber). 1. Emplacement du noyau. 2. Microfilaments d'actine.

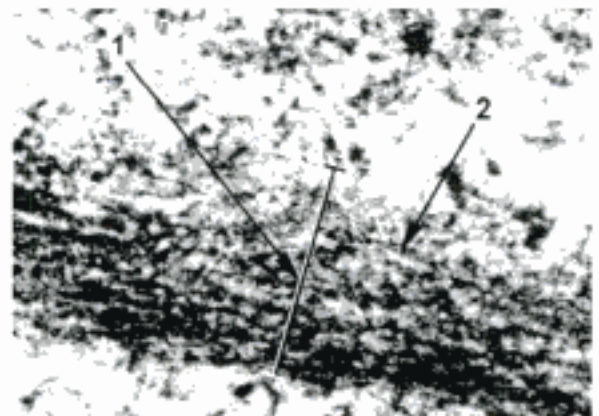


Fig. 9.2

Faisceau de microfilaments.

Photomicrographie électronique à transmission (x 60 000). Ce faisceau correspond à une seule structure linéaire fluorescente de la fig. 9.1. 1. Faisceau d'actine. 2. Microfilament d'actine. R. Golman, *Exp. Cell. Res.*

C. Architecture moléculaire des MF

Les MF (ou actine F) *semblent être* constitués par une double hélice (fig. 9.3). Il s'agit en fait d'une disposition monocaténaire en hélice. Cette impression ne dépend en fait que du résultat de l'orientation des molécules d'actine les unes par rapport aux autres, chacune possédant un axe dont la direction est légèrement différente de celle de la molécule voisine. Cette rotation se fait toujours dans le même sens.

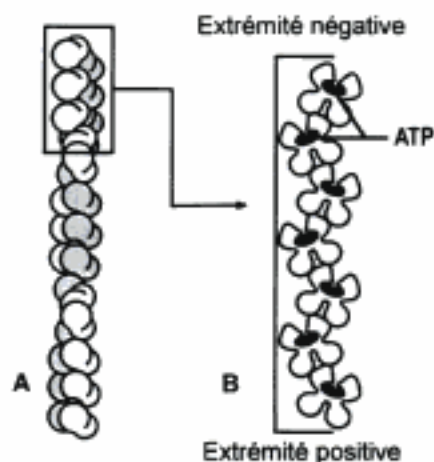


Fig. 9.3

Microfilaments d'actine ou actine F.

- A. Les monomères d'actine sont disposés de manière à former un polymère hélicoïdal (disposition monocaténaire en hélice).
B. Disposition des monomères : chaque monomère contient une molécule d'ATP (voir fig. 9.4).

Le pas de l'hélice est de 37 nm ; disposées en torsade, 13 molécules d'actine G s'étendent sur une longueur de 74 nm. Les microfilaments d'actine, compte tenu de la structure polaire de l'actine G, possèdent une extrémité positive et une extrémité négative.

D. Actine G

1. Structure

L'actine G (42 kDa – G pour globulaire), forme de stockage de l'actine, est un polypeptide de 375 acides aminés qui contient un acide aminé rare, la 3 méthyl-histidine. C'est une molécule globulaire, monomère, telle qu'elle peut être isolée, dans des concentrations de faible salinité, à partir des MF. La molécule d'actine est constituée par *deux lobes* (fig. 9.4) reliés entre eux par un court segment. Elle possède deux domaines, séparés par un sillon. Les molécules d'actine G ont une *structure polaire* avec deux extrémités différentes. Les sites de liaison pour Mg^{++} et pour le nucléotide (ATP ou ADP : adénosine diphosphate) sont localisés au fond du sillon. Elle peut se lier à l'ATP ou à l'ADP, mais son *affinité* est plus forte pour l'ATP : dans une cellule où la concentration d'ATP est élevée, toutes les molécules d'actine G ont leur site de liaison occupé par l'ATP. L'échange entre le nucléotide fixé sur le site de liaison et le nucléotide libre dans le cytosol s'effectue lentement.

2. Isoformes de l'actine

L'actine est une des protéines les plus abondantes (jusqu'à 15 % des protéines totales). L'homme possède six gènes de l'actine et exprime quatre isoformes musculaires α (α squelettique, α cardiaque, α vascu-

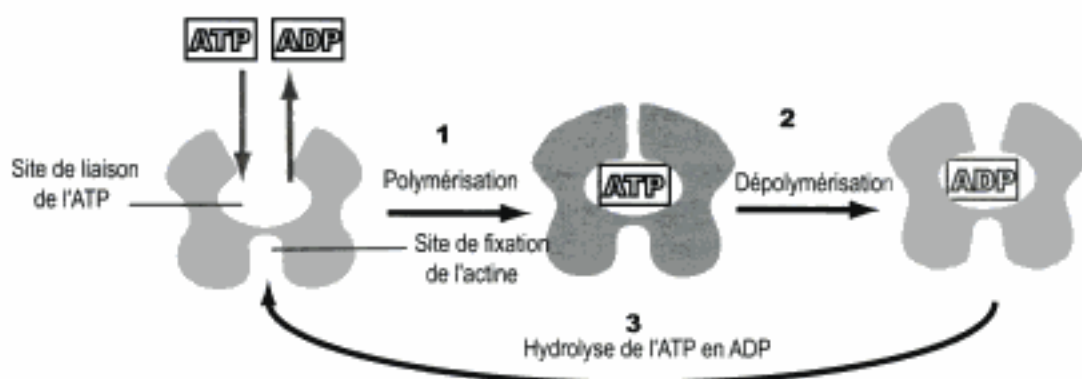


Fig. 9.4

Forme de l'actine G.

Structure en bivalve pouvant s'ouvrir pour recevoir l'ATP sur un site de fixation. 1. Avant la polymérisation, l'ATP se fixe sur l'actine.

2. L'hydrolyse de l'ATP en ADP provoque la dépolymérisation. 3. Le site est de nouveau disponible pour recevoir l'ATP.

laire et α viscérale) et deux isoformes cytoplasmiques non musculaires : l'actine β et l'actine γ .

In vitro, les monomères des actines α , β et γ peuvent former des polymères contenant ces différentes isoformes (copolymères). *In vivo*, une telle copolymérisation est impossible : la cellule reconnaît les isoformes par un mécanisme encore inconnu. Dans le muscle strié, l'actine α est la seule à constituer les filaments fins des sarcomères et l'actine γ est localisée au voisinage des mitochondries.

3. Forme polymérisée de l'actine G

L'actine G polymérisée constitue des microfilaments ou *actine F* (F : fibrillaire). L'observation latérale d'un MF disposé verticalement montre que les monomères, tous disposés dans le même sens, sont légèrement décalés l'un par rapport à l'autre, de telle sorte que le MF paraît être constitué par deux filaments qui s'enroulent en spirale.

E. Polymérisation des MF**1. Définition**

La polymérisation des MF est l'association de monomères d'actine G en un filament hélicoïdal, correspondant à une hélice simple de monomères. La polymérisation se déroule en trois phases, une phase de latence ou de nucléation, une phase de croissance et une phase d'équilibre.

2. Nucléation

Avant de se polymériser, l'actine G s'unit à l'ATP. Au cours de la phase de nucléation, l'actine, qui possède des sites de faible affinité, forme des dimères qui se dissocient très rapidement. Aux concentrations physiologiques, la fixation de cations monovalents et divalents sur ces sites favorise la nucléation. L'ajout d'un monomère à un dimère stabilise le groupe sous la forme d'un trimère (fig. 9.5) qui agit comme un noyau de polymérisation (ou site de nucléation).

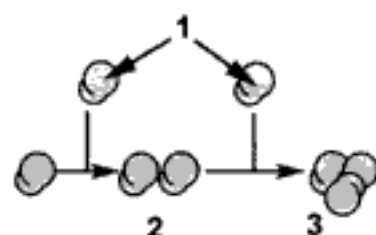


Fig. 9.5

Nucléation.

La formation de l'actine F, polymère hélicoïdal de l'actine G, commence par une phase de nucléation, au cours de laquelle les molécules d'actine G forment un dimère, puis un trimère qui agit comme un site de nucléation.

3. Phase de polymérisation

a. Association des monomères

La phase de nucléation est suivie par la phase de polymérisation au cours de laquelle les molécules d'actine G s'associent les unes aux autres rapidement. La polymérisation dépend surtout de la présence et d'une concentration suffisante de Mg^{++} , d'ATP et d'actine G.

Une molécule d'ATP se fixe sur le site de liaison de chaque molécule d'actine G, mais l'hydrolyse de l'ATP ne se produit pas, elle n'est pas nécessaire car la polymérisation est *ATP-indépendante*.

b. Monomères actine-ATP

L'ATP associé au monomère d'actine est hydrolysé en ADP un certain temps après son incorporation au filament d'actine en croissance. L'actine agit en effet comme une *ATPase lente*. Il subsiste donc des sous-unités d'actine-ATP qui coiffent l'extrémité des MF. Au cours d'une polymérisation rapide, l'extrémité coiffée du filament favorise la poursuite de la polymérisation. Les sous-unités actine-ATP jouent un rôle de stabilisateur.

c. Lieu d'incorporation des monomères

In vitro, les MF, incubés dans des milieux riches en monomères d'actine contenant des isotopes radioactifs, sont marqués à leurs deux extrémités. Cependant, une extrémité incorpore l'actine G dix fois plus vite que l'autre. Cette extrémité est l'*extrémité positive*. Si ces MF marqués sont mis en présence d'une solution de *méromyosine lourde* (HMM : *Heavy Meromyosin*), celle-ci se fixe sur les MF et chaque sous-unité prend l'aspect d'une flèche (fig. 9.6). Cette décoration par HMM montre que l'extrémité barbelée (positive) du MF est l'extrémité à croissance rapide, tandis que la pointue (négative) est l'extrémité à croissance lente. L'*extrémité pointue* est le site préférentiel de dépolymérisation.

Puisque les monomères d'actine ont tendance à se placer à l'extrémité positive du filament et à le quitter à son extrémité négative, les monomères individuels doivent se déplacer le long du filament d'actine : les MF se comportent comme un *tapis roulant* (*treadmilling*), puisqu'un groupe de molécule se déplace de l'extrémité positive vers l'extrémité négative (fig. 9.7). Il est probable, mais non certain, que ce processus existe aussi *in vivo*.

Fig. 9.6

Polarité de microfilaments.

A. Coloration négative montrant des microfilaments exposés à une solution contenant de la méromyosine lourde (S1). S1 se fixe sur les microfilaments et chaque sous-unité prend l'aspect d'une flèche. L'orientation des segments S1 souligne la polarité des microfilaments.

B. 1. Segment S1 de la méromyosine. 2. Microfilament d'actine. 3. Monomère d'actine.

C. La polymérisation et la dépolymérisation se déroulent aux deux extrémités, mais la polymérisation est plus rapide que la dépolymérisation au niveau de l'extrémité positive.

D. Il en résulte que le microfilament s'allonge au niveau de l'extrémité positive. 4. Extrémité positive. 5. Extrémité négative.

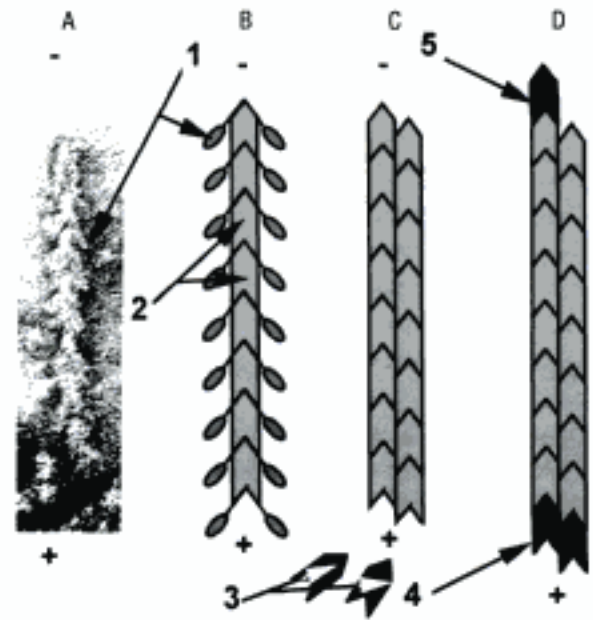


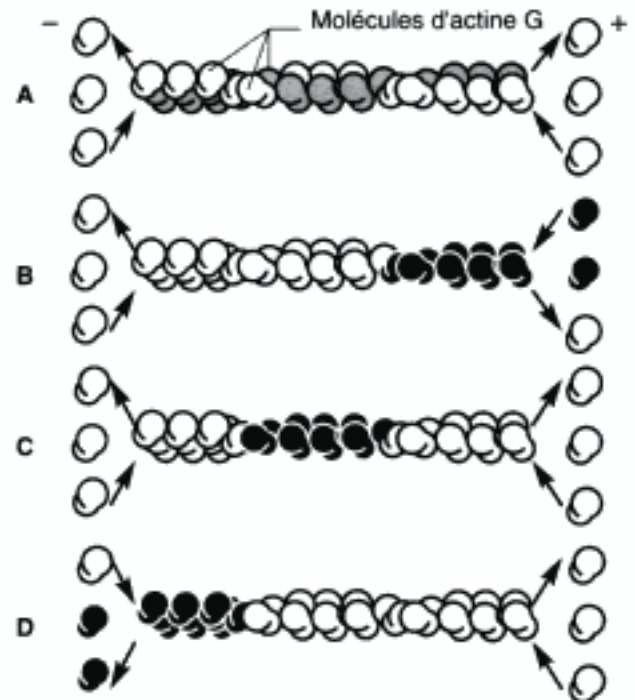
Fig. 9.7

Tapis roulant (treadmilling) des molécules d'actine.

A. Organisation des MF. Disposition en une spirale monocaténaire des molécules d'actine.

B. La polymérisation et la dépolymérisation se produisent à chaque extrémité, mais la polymérisation est plus rapide que la dépolymérisation à l'extrémité positive (c'est l'inverse à l'extrémité négative). Les molécules d'actine qui sont incorporées dans le microfilament se déplacent en direction de l'extrémité négative. Ce mouvement est décrit sous le nom de « mouvement de tapis roulant ».

C et D. Les molécules d'actine, incorporées dans le microfilament en B, sont libérées à l'extrémité négative et rejoignent le pool de monomères.

**d. Fonction de la polymérisation**

La polymérisation seule de l'actine, en l'absence de toute protéine motrice, est génératrice d'une force. Par exemple, le déplacement de certaines bactéries dans les cellules résulte de la polymérisation de l'actine G de la cellule hôte.

4. Phase d'équilibre

La phase d'équilibre est atteinte lorsque le MF ne s'allonge plus. À ce moment, la vitesse de désassemblage en monomère, au niveau de l'extrémité négative, est égale à la vitesse d'assemblage à l'extrémité positive.

■ Le treadmilling se produit aussi pour les MT individuels.

Cette phase d'équilibre dépend de la concentration du milieu en actine G. Au-dessous d'une certaine concentration en actine G appelée *seuil critique*, la polymérisation est impossible. La polymérisation se déroule donc jusqu'à une phase critique, qui correspond à une diminution de la concentration d'actine G telle qu'elle ne permet plus l'allongement des MF : les monomères se lient alors au MF à la même vitesse qu'ils se dissocient.

F. Dépolymérisation des MF

L'hydrolyse de l'ATP fixée à l'actine provoque la dépolymérisation des MF. La dépolymérisation rapide des MF souligne leur instabilité dynamique. Les polymères formés par les MF sont *non covalents*. L'hydrolyse de l'ATP s'effectue lentement dans l'actine G, mais elle s'accélère après leur incorporation dans l'actine F. Il s'ensuit que le MF contient des sous-unités liées à l'ATP et d'autres à l'ADP ; la forme sous-unité d'actine-ADP existe dans le MF au niveau de l'extrémité négative, lieu de la dépolymérisation. L'actine-ADP induit la dépolymérisation des MF.

G. Inhibiteurs de la polymérisation et de la dépolymérisation

Les *cytochalasines* extraites de champignons microscopiques, en se fixant sur l'extrémité positive des MF, inhibent la polymérisation de l'actine, en empêchant la fixation de nouvelles molécules d'actine G.

Les *phalloïdines* sont des protéines toxiques hexapeptidiques, extraites d'un champignon, l'amanite phalloïde : elles inhibent la libération des monomères d'actine en se fixant sur les côtés des MF et réunissent les monomères en adhérant sur chacun d'eux.

H. Localisation des MF

L'actine se répartit dans la totalité du cytoplasme : cependant, dans les cellules animales, sa concentration est plus grande dans la région périnucléaire, où elle se dispose en une corbeille.

À la périphérie des cellules animales, dans le *cortex cellulaire*, les MF se disposent en faisceaux. Lorsque le cortex est épais, les MF se disposent en un treillis tridimensionnel : lorsqu'il est mince, ils constituent des faisceaux parallèles à la membrane plasmique. Les MF du cortex jouent un rôle mécanique : la forme de la cellule dépend de la répartition, de la disposition et de l'importance du réseau d'actine qui repousse les organites vers l'endoplasme.

I. Arp associées à l'actine

Les Arps (*Actin-related proteins* – protéines apparentées à l'actine) existent dans toutes les cellules animales depuis l'amibe jusqu'à l'Homme. Elles sont identiques à 45 % de l'actine. Elles sont issues d'un même gène ancestral apparu probablement à la même époque que celui de l'actine. Elles possèdent également un site de liaison à l'ATP et interviennent dans des interactions à partir de l'actine. Par exemple, l'Arp 1 est un filament court qui lie le chargement à la dynéine (une protéine motrice) aux MT. Les Arps 2 et 3 contrôlent la polymérisation de l'actine dans le cortex cellulaire.

Le complexe Arp2/3 intervient dans la nucléation des filaments d'actine en cours de croissance. Mais cette nucléation s'effectue à partir de l'*extrémité négative*, ce qui permet une élongation rapide à l'extrémité plus. De plus, le complexe Arp2/3 a la propriété très particulière d'édifier des réseaux d'actine. Il peut se fixer à la fois sur l'extrémité négative d'un filament en cours de nucléation et sur le côté d'un autre filament d'actine. Le complexe Arp est localisé dans les régions cytoplasmiques où les MF doivent s'allonger rapidement (par ex. les *lamellipodes*). Des molécules de signalisation intracellulaire, comme la protéine WAS (impliquée dans le syndrome de Wiskott-Aldrich) (voir « Exemple de protéines adaptatrices », p. 190), situées sur la face cytosolique de la membrane plasmique, contrôlent l'activité de nucléation.

J. Protéines de liaison de l'actine

1. Définition

Les protéines de liaison ou ABP (*Actin Binding Proteins* ; protéines de liaison de l'actine) sont des protéines qui, en s'associant à l'actine G ou aux MF, interviennent dans leur polymérisation et leur dépolymérisation, leur stabilisation, leur organisation en faisceaux, leur organisation en réseaux, leur fragmentation, leur fixation sur la face interne de la membrane plasmique, leur destruction ou leur fragmentation, etc.

2. Fonctions des protéines de liaison de l'actine

a. Protéines de séquestration des monomères

Les protéines de séquestration des monomères regroupent trois familles essentielles : les profilines, les thymosines, les ADF/cofilines (ADF : *Actin-Depolymerizing Factor* ; facteur de dépolymérisation de l'actine). Elles régulent la polymérisation de l'actine G. Le cytoplasme contient un pool important d'actine G : la concentration en actine G est supérieure au seuil nécessaire à la polymérisation. Si ces protéines de séquestration n'existaient pas, une polymérisation spontanée de l'actine G en actine F se produirait.

Les *profilines* (fig. 9.8) constituent une famille de protéines ubiquitaires qui s'associent à l'actine par sa face opposée à celle occupée par le sillon.

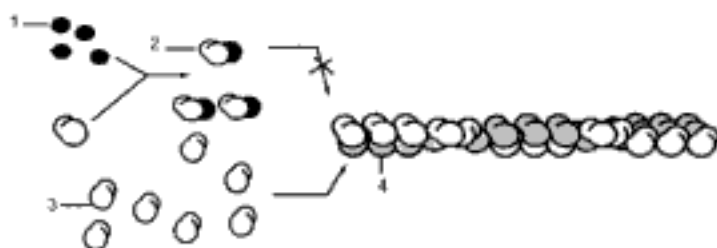


Fig. 9.8

Inhibition de la polymérisation de l'actine par la profiline.

1. Profiline. 2. Profilactine. 3. Actine G. 4. Actine F.

La profiline inhibe la polymérisation de l'actine : les complexes profiline-actine constituent un pool important rapidement utilisable. En raison de leur affinité décroissante pour l'actine sans nucléotides (c'est-à-dire dépourvue d'ATP et d'ADP), l'actine-ATP et l'actine-ADP, les profilines inhibent la nucléation et l'élongation au niveau de l'extrémité négative (extré-

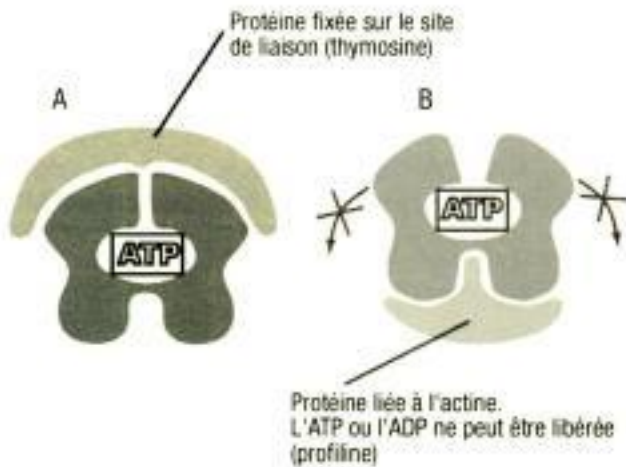


Fig. 9.9

Protéine de séquestration.

- A.** La thymosine bloque le site de fixation de l'ATP.
B. La profiline agit de même, mais en empêchant le mouvement de charnière de la molécule d'actine qui permet l'ouverture du site de fixation de l'ATP.

Redessiné d'après B. Alberts.

mité pointue) et favorisent le remplacement de l'ADP par l'ATP dans les monomères d'actine. Le complexe profiline-actine réagit à des signaux comme l'augmentation de calcium intracellulaire : la profiline se lie alors à l'extrémité positive (extrémité en brosse ou barbelée) et bloque pratiquement toutes les réactions de polymérisation sauf l'association du complexe profiline-actine-ATP.

Les *thymosines* β constituent une famille comprenant les plus petites protéines (43 résidus d'AA : acides aminés) capables de se lier aux monomères d'actine (fig. 9.9). La thymosine β_4 , qui existe dans les granulocytes neutrophiles et les plaquettes à une concentration suffisante pour séquestrer la totalité de l'actine G, possède une affinité 100 fois plus grande pour les monomères actine-ATP que pour les monomères actine-ADP. Elle provoque un blocage de la polymérisation en se fixant sur chaque molécule d'actine G. Les monomères actine-ATP sont stockés sous une forme liée à la thymosine et constituent un pool de *complexes thymosine-actine-ATP*. La *profiline* peut utiliser ces complexes en cas d'allongement des MF : c'est elle qui transfère l'actine contenue dans ce pool vers l'extrémité positive des MF.

Cycle de polymérisation de l'actine

► Les monomères d'actine-ATP utilisables pour allonger les MF sont stockés sous la forme de complexes « profiline-actine-ATP ». Ce complexe fixe une molécule d'actine-ATP à l'extrémité positive du MF si elle est libre. Immédiatement après fixation du complexe à l'extrémité, la profiline est libérée. Dans le MF (mais pas à son extrémité positive), les monomères hydrolysent l'ATP et libèrent le phosphate. Les ADF/cofilines favorisent le désassemblage des filaments d'actine-ADP. Les monomères actine-ADP gagnent le pool d'actine où la profiline favorise la substitution de l'ATP à l'ADP. Le complexe « profiline-actine-ATP » est reconstitué.

b. Protéines de coiffe des extrémités

Ce sont des protéines qui, en se fixant à l'une des deux extrémités des MF, empêchent soit l'addition, soit la dissociation des monomères.

La *gelsoline*, la *fragmine* et la *séverine* piègent le calcium, bloquent la dissociation et l'adjonction de monomères en se liant à l'extrémité positive et sur les côtés des MF. Ces protéines sont également des protéines de fragmentation puisqu'elles coupent les MF en fragments plus courts.

Le *complexe Arp2/3* coiffe l'extrémité négative des MF. Il présente la particularité de nucléer la polymérisation en direction de l'extrémité positive. Il se place sur le côté d'un MF et il polymérise un nouveau MF qui apparaît comme une branche latérale sur un ancien filament.

Les *protéines hétérodimériques de la coiffe*, non dépendantes du calcium, coiffent l'extrémité positive et favorisent la polymérisation de l'extrémité négative.

Les *ADF/cofilines*, une famille de protéines ubiquitaires, se lient aux monomères d'actine-ADP avec une plus grande affinité que pour les monomères d'actine-ATP. Elles déstabilisent les filaments d'actine-ADP en se liant à eux. Elles inhibent l'échange ADP/ATP mais elles n'inhibent pas la polymérisation. Ces deux familles interviennent dans le cycle de polymérisation de l'actine (voir encadré, page 174).

Elles contrôlent la longueur des MF. L' α -*actinine*, *CapZ* appartiennent à ce groupe de protéines. Par exemple, les protéines *CapZ* coiffent l'extrémité positive de courts MF dans les plaquettes sanguines (thrombocytes).

c. Protéines de fragmentation

Ces protéines (*gelsoline*, *brévine*) s'unissent à une région des MF et la coupent en deux parties. La *gelsoline* possède une activité de coupure des MF qui est accrue par l'augmentation de la concentration en Ca^{++} . Elle possède plusieurs sous-domaines. Elle se fixe latéralement sur le MF et profite de la création, par une fluctuation thermique par ex., d'un espace entre deux monomères pour y insérer un de ses sous-domaines et sectionner le MF. Les fragments ainsi produits demeurent coiffés par la *gelsoline*. L'élimination de cette coiffe dépend de l'augmentation de la concentration de PIP1 (phosphatidylinositol phosphate 1).

d. Protéines de stabilisation

Elles maintiennent la structure des MF. Les cellules non musculaires possèdent de nombreuses isoformes de la *tropomyosine* (TM), une molécule de liaison de l'actine d'abord découverte dans les cellules musculaires. Elle a une forme fibrillaire (fig. 9.10).

La *tropomyosine* possède de très nombreux sites de fixation de l'actine. Sa principale propriété réside donc dans son aptitude à se fixer le long des filaments d'actine. Elle exclut la *filamine*.

Fig. 9.10

Tropomyosine.

Cette molécule de stabilisation de l'actine se place dans les gouttières formées par la succession des molécules d'actine G. 1. Actine. 2. Tropomyosine.



L'activité de la tropomyosine est modulée par la tropomoduline (40,6 kDa), une protéine de liaison de la TM (extraite pour la première fois du cytosquelette de la membrane des érythrocytes humains) ; elle se lie à la TM et bloque ainsi l'association tête/queue des molécules de TM le long des MF.

La *nébuline*, une protéine fibrillaire allongée, dans le muscle strié, en se disposant latéralement sur toute la longueur des MF, empêche les échanges de monomères.

La *caldesmone* est également une protéine fibrillaire présente dans les cellules musculaires et non musculaires. Les isoformes de caldesmone non musculaire sont capables de se lier à l'actine, à la tropomyosine, à la calmoduline/ Ca^{++} , à la myosine et aux phospholipides. Toutes les caldesmones interviennent dans la régulation du réseau de MF et dans la stabilisation de ces MF en inhibant la dépolymérisation : en effet, les caldesmones, en se fixant le long des MF sur les monomères, empêchent leur libération.

e. Protéines de réticulation

Appelées aussi protéines de liaison croisée (*filamine*, *gélactine*), ces protéines peuvent relier les MF entre eux : elles favorisent la formation de gel, augmentant ainsi la viscosité du cytoplasme. La filamine est un dimère : elle a la forme d'un V et possède des sites de fixation à l'actine à l'extrémité de chacun de ses bras. Elle peut ainsi créer un réseau lâche tridimensionnel : de tels réseaux sont souvent localisés sous la membrane plasmique et soutiennent la surface cellulaire.

f. Protéines de fasciculation

Les protéines de fasciculation organisent les MF en faisceaux. L' α -actinine associe les MF dans les *faisceaux contractiles*. L' α -actinine peut ancrer l'actine à une très grande variété de structures intracellulaires : elle existe dans le treillis non organisé des MF corticaux. Le domaine de liaison de l' α -actinine est constitué par 250 résidus d'acides aminés situés dans la région aminoterminal. Un tel domaine existe aussi dans la spectrine, la fimbrine, une petite protéine de liaison croisée qui possède deux sites de fixation à l'actine très proches l'un de l'autre. La *fimbrine* et la *villine* associent les MF dans les *faisceaux d'actine non contractiles*.

g. Protéines d'ancrage membranaire

La *spectrine*, la *dystrophine* associent les MF à la membrane plasmique. De telles protéines jouent un rôle important. Les membres de la famille de la *dystrophine*, par exemple, interagissent dans le tissu musculaire avec l'actine cytosquelettique : la mutation de la dystrophine est à l'origine de très graves myopathies.

K. Faisceaux contractiles

Les faisceaux contractiles ou *fibres de tension* sont constitués par des MF associés à des molécules de *myosine II*. Ces faisceaux contractiles peuvent soit s'insérer sur la membrane plasmique au niveau de points de contacts focaux, soit constituer des anneaux contractiles, soit être associés à des jonctions intermédiaires (*ceinture d'adhérence*). La contraction dépend des mouvements de glissement des MF les uns par rapport aux

autres : ces mouvements sont ATP-dépendants et provoqués par la myosine (voir « Mécanisme moléculaire de la contraction », p. 194).

1. Structure

Dans les faisceaux contractiles, les MF sont distants de 30 à 60 nm ; l'extrémité positive d'un MF avoisine l'extrémité négative du MF adjacent. Ils contiennent une ABP, l' α -actinine (un homodimère), qui associe les MF les uns aux autres. Ils contiennent aussi des molécules de *myosine II* (fig. 9.11).

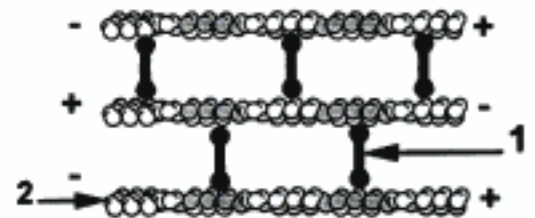


Fig. 9.11

Fibres de tension.

1. α -actinine. 2. Microfilament d'actine.

2. Myosine II et glissement des MF les uns par rapport aux autres

La myosine II est responsable des mouvements de glissement des MF les uns par rapport aux autres (fig. 9.12).

La myosine II se lie, par sa queue, à un MF fixé à la membrane (MF guide) et par sa tête à un MF libre : elle provoque un déplacement, par glissement, du MF libre en direction de l'extrémité positive du MF guide.

L'hydrolyse de l'ATP par les molécules de myosine II provoque la fixation de la tête de la myosine sur le MF, tandis que la phosphorylation de l'ADP provoque le détachement.

Cette molécule possède une queue et deux têtes globulaires. En interagissant par l'intermédiaire de ses têtes avec deux filaments d'actine, elle fait glisser les deux MF l'un par rapport à l'autre et détermine ainsi une contraction, par glissement des MF les uns par rapport aux autres, sans modification de la longueur des MF (fig. 9.12).

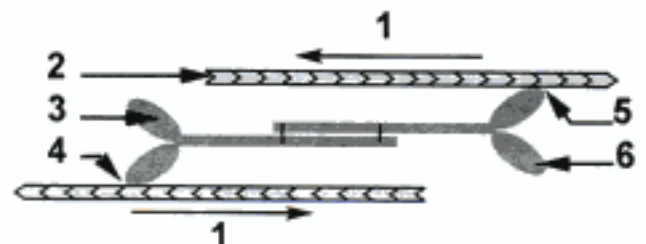


Fig. 9.12

Myosine II. Les faisceaux contractiles.

Glissement des microfilaments d'actine l'un par rapport à l'autre.

1. Sens du déplacement du microfilament d'actine.

2. Microfilaments d'actine. 3. Myosine II.

4. et 5. Hydrolyse de l'ATP. 6. Myosine II.

3. Mécanisme de formation des fibres de tension

La formation des fibres de tension de ces cellules est induite par l'*acide lysophosphatidique* (LPA) libéré par les plaquettes sanguines. Par exemple, la cicatrisation d'une plaie cutanée implique l'intervention et la mobilisation des fibroblastes. La fixation de LPA sur un récepteur de la membrane des fibroblastes aboutit à l'activation de la petite protéine G

Rho qui provoque la formation des fibres de tension (voir « Rôle des protéines de la famille Rho », p. 189).

4. Points de contact focaux

a. Définition

Les points de contact focaux sont des points d'interaction des faisceaux contractiles d'actine avec la membrane plasmique qui, à ce niveau, adhère à la matrice extracellulaire.

b. Organisation moléculaire des points de contacts focaux

Les points de contacts focaux contiennent des molécules d'adhésion au substrat (SAM : *Substrate Adhesion Molecules*) comme les *intégrines*, une famille de glycoprotéines hétérodimériques transmembranaires, capables de se lier et de reconnaître de nombreux composants de la matrice extracellulaire (voir chapitre 7, p. 131).

Les molécules d'*intégrine* (récepteur d'adhésion) s'attachent par leur extrémité extracellulaire à leur ligand, la *fibronectine*, synthétisée, par exemple, par le fibroblaste. L'extrémité intracellulaire des molécules d'*intégrine* s'associe à la *taline* qui s'unit, par l'intermédiaire de la *vinculine*, à la protéine de formation de la calotte et à l' α -actinine.

c. Formation des contacts focaux

Rho A, un membre de la famille des petites protéines G, intervient dans le regroupement des molécules d'*intégrine* qui se produit au moment de la formation des contacts focaux. Le contact de la cellule avec la matrice extracellulaire entraîne le regroupement des molécules d'adhésion, en particulier les *intégrines*. Les *intégrines* regroupées reconnaissent la séquence *RGD* des *fibronectines* de la matrice extracellulaire et se lient à ces molécules. Ce regroupement dépend de la présence de facteurs de croissance. Les récepteurs des facteurs de croissance activent la molécule *Rho A*. *Rho A*, à son tour, active le processus de regroupement des *intégrines*.

Le rôle clé de *Rho A* dans l'attachement a été montré en injectant un inhibiteur de *Rho A* directement dans les cellules : elles ne forment plus de contacts focaux car les *intégrines* ne se regroupent pas en clusters.

Un complexe de protéines se forme autour des clusters d'*intégrines* : la *taline* s'attache aux *intégrines*, puis la *vinculine* s'attache à la *taline* et à l' α -actinine qui, à son tour, se lie à l'actine du cytosquelette. Le cytosquelette forme alors des fibres de stress qui traversent la cellule de part en part.

d. Fonctions des points de contacts focaux

Les interactions membrane/faisceaux contractiles d'actine, au niveau des contacts focaux (fig. 9.13), interviennent dans :

- l'ancrage des cellules au substrat ;
- la régulation de la locomotion cellulaire : par exemple, les fibroblastes en cours de migration s'attachent au substrat par les points de contacts focaux qui permettent aux filaments d'actine de tirer sur le substrat et de développer la force nécessaire pour la rétraction de l'extrémité postérieure ;

- le contrôle de la forme cellulaire qui dépend du treillis de MF du cortex cellulaire ;
- la stabilisation des attachements à d'autres cellules ;
- les réponses cytoplasmiques aux facteurs de croissance et aux autres stimuli.

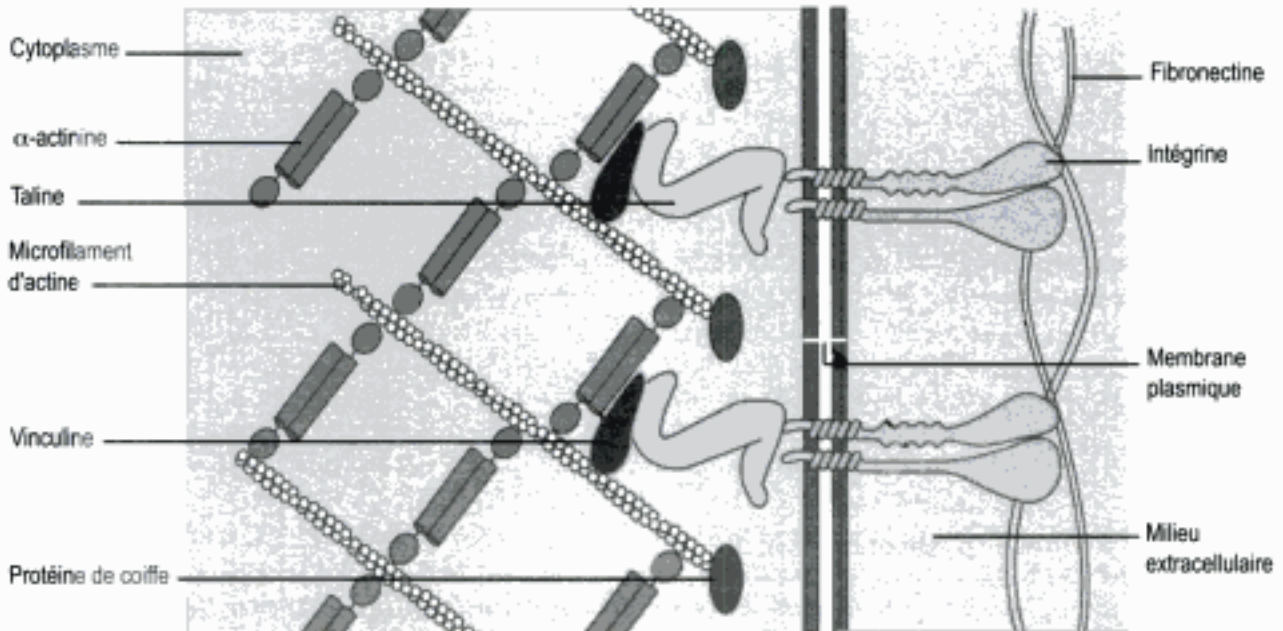


Fig. 9.13

Faisceau d'actine et point de contact focal.

Redessiné d'après G. M. Cooper.

5. Anneaux contractiles

Les faisceaux contractiles peuvent s'organiser en anneaux contractiles. À la fin de la mitose des cellules animales, juste avant la séparation des deux cellules filles, il se forme un anneau sous-membranaire, constitué par des faisceaux contractiles formés par des MF d'actine et de la myosine II. La contraction de cet anneau sépare progressivement la cellule mitotique en deux cellules filles.

6. Ceintures d'adhérence

Les ceintures d'adhérence sont des zones de jonction situées près de la surface des cellules épithéliales (comme les entérocytes) qui entourent la cellule (voir chapitre 8, p. 142). Elles sont unies les unes aux autres par des faisceaux contractiles.

L. Faisceaux serrés

1. Définition

Les faisceaux serrés sont des *structures non contractiles* (fig. 9.14) dépourvues de myosine à cause de leur assemblage serré, constituées par des MF parallèles et orientés avec la même polarité, liés les uns avec les autres par des protéines d'association (fimbrine, villine), séparés par un espace de 10 à 20 nm.

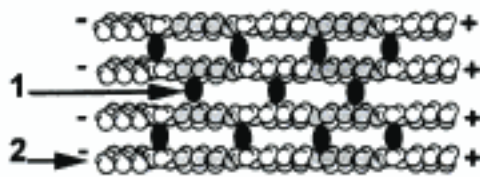


Fig. 9.14

Faisceau serré.

1. Fimbrine. 2. Microfilament d'actine.

2. Fonctions des faisceaux serrés

a. Filopodes et lamellipodes

Les faisceaux serrés d'actine s'observent dans les filopodes ou les lamellipodes des fibroblastes en migration : ils se fixent par leur *extrémité positive* sur la membrane plasmique. Ce point de fixation est le siège de la *nucléation* des MF. Ils se polymérisent au contact de la membrane plasmique qui constitue le bord antérieur (par rapport au sens du mouvement) de la cellule. Ils sont à l'origine de la protrusion de la membrane plasmique car la polymérisation des MF de ces faisceaux repousse en avant la membrane plasmique.

b. Microvillosités

Les microvillosités contiennent chacune un *faisceau serré* (fig. 9.15) disposé parallèlement à leur axe.

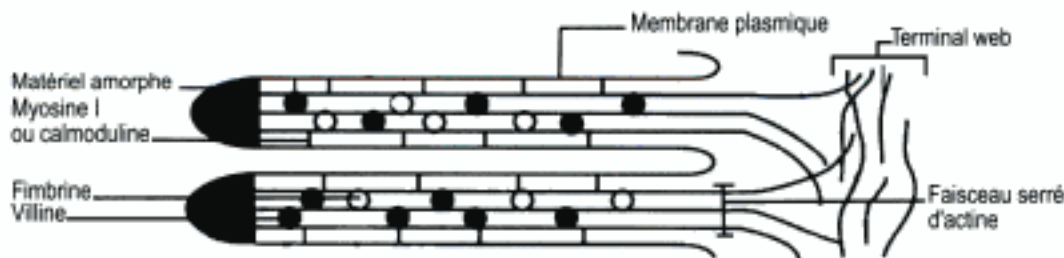


Fig. 9.15

Faisceaux serrés des microvillosités.

Une extrémité du faisceau s'ancre dans une substance dense située au sommet de la microvillosité, probablement une myosine V : l'autre extrémité est reliée aux molécules de *spectrine* et de *myosine II* du *terminal web* situé, dans le pôle apical, sous les microvillosités. Une ATPase filamentueuse activée par l'actine, formée par un complexe calmoduline-protéine appartenant à la classe des *myosines I*, réunit les parties latérales de chaque faisceau de microfilaments d'actine à la face interne de la membrane de la microvillosité. Des molécules, la *villine* et la *fimbrine*, unissent les microfilaments. La villine, en présence d'un faible taux de calcium, polymérise les microfilaments d'actine dans les microvillosités et les unit en faisceaux.

La *fimbrine* (68 kDa) se lie fortement sur les MF, à raison de 1 molécule pour 10 monomères d'actine, et les unit en faisceaux particulièrement résistants. Ces faisceaux serrés maintiennent la structure des microvillosités (voir chapitre 3, p. 50).

Ces faisceaux sont *dépourvus* de tropomyosine et d' α -actinine.

M. Fonction des MF

1. Adhérence au substrat

Les MF d'actine sont reliés à la lame basale par les molécules d'intégrine qui sont soit réparties plus ou moins régulièrement dans la lame basale, soit regroupées dans les points de contacts focaux.

Les *points de contacts focaux* (fig. 9.13) jouent un rôle non seulement dans la liaison des fibres de tension à la lame basale mais aussi dans la transduction des signaux membranaires grâce aux molécules d'intégrine. Des protéines adaptatrices (taline et vinculine) associent, par leur extrémité, les fibres de stress aux domaines intracellulaires des intégrines. Les intégrines sont liées aux protéines de signalisation par la paxilline. Lors de l'adhérence à la matrice extracellulaire, les intégrines sont activées. Elles s'agrègent pour former des « complexes focaux » qui deviennent rapidement des points de contacts focaux. En se liant à la matrice, les intégrines induisent le recrutement de molécules de signalisation intracellulaire et en particulier des tyrosines kinases cytosoliques comme FAK, Src. Les signaux déclenchent la phosphorylation des protéines d'adhérence par les tyrosines kinases cytosoliques, l'augmentation de la concentration en calcium du cytoplasme et le regroupement des intégrines en « complexe focaux ».

2. Adhérence intercellulaire

Les *cadhérines* et les *intégrines* interagissent avec le cytosquelette intracellulaire. Ces protéines d'adhérence sont reliées, dans les jonctions serrées, aux filaments d'actine par des protéines d'adaptation. Dans les cellules épithéliales ou musculaires, ces interactions sont des liens de continuité mécanique qui permettent de transmettre des forces de tension et de diminuer les risques de rupture mécanique.

3. Agrégation plaquettaire

Les plaquettes (thrombocytes) sont des cellules sanguines anucléées qui interviennent dans la réparation des défauts du revêtement endothélial des vaisseaux en s'agrégeant (fig. 9.16). Les MF d'actine sont coiffés par des protéines de coiffage dans les plaquettes inactivées (fig. 9.16A).



Fig. 9.16

Mécanisme d'activation des plaquettes.

Sous l'influence d'un stimulus provoqué par une lésion endothéliale, l'entrée de calcium dans la cellule active la *gelsoline* (fig. 9.16B) : les filaments d'actine sont fragmentés et coiffés par la gelsoline. Puis, les MF d'actine s'allongent par polymérisation après élimination des protéines de

coiffage et de la gelsoline (fig. 9.16C). L'augmentation progressive des PIP2 induite par le signal active également le calcium. Il se produit alors une fasciculation des filaments d'actine qui, en repoussant la membrane plasmique, forment des filopodes (fig. 9.16D). En présence de thrombospondine et d'ADP, ces filopodes se lient aux molécules de collagène de la lame basale et sont responsables de l'agrégation des plaquettes. Ces agrégats obturent la lésion de la paroi vasculaire en s'agglomérant l'un à l'autre.

4. Contrôle de la forme cellulaire : le cytosquelette sous-membranaire

Les MF contrôlent la forme cellulaire : par exemple, celle des hématies (fig. 9.17).

Ces cellules circulaires possèdent deux faces biconcaves. Cette forme dépend de l'interaction de la *spectrine* avec des MF, des protéines de liaison et des protéines membranaires.

La spectrine est un hétérodimère de deux chaînes, α et β , qui s'associent en tétramères ($265 \text{ kDa} \times 2$ et $260 \text{ kDa} \times 2$). Ces dimères se disposent en réseau dense situé sous la membrane des hématies.

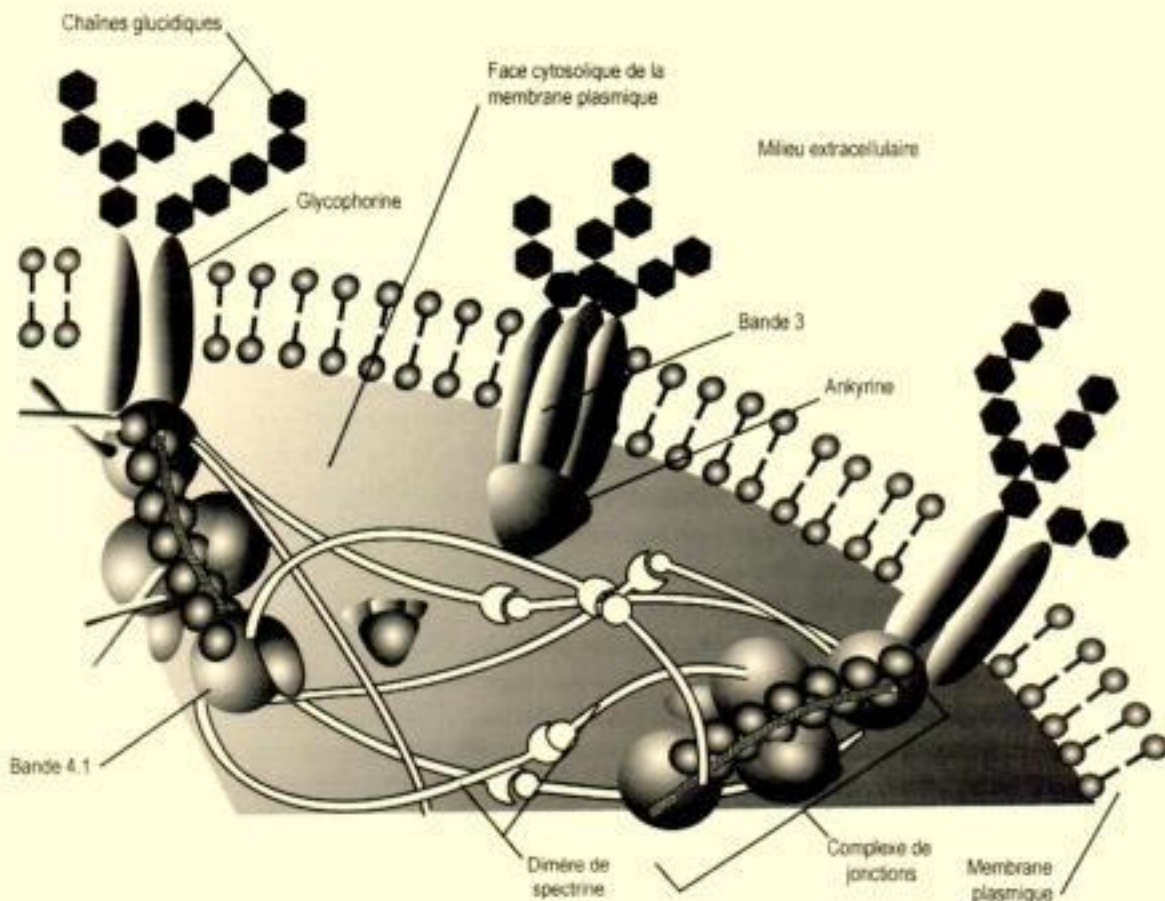


Fig. 9.17

Squelette sous-membranaire de l'hématie.

Les dimères de spectrine dessinent un réseau sous-membranaire tendu entre les complexes de jonction (voir aussi fig. 9.18) : ce réseau est lié à la membrane plasmique par les complexes de jonction et par l'intermédiaire de l'ankyrine qui se fixe sur les protéines bande 3. Au niveau des complexes de jonction, les extrémités des dimères s'associent aux microfilaments et à des protéines du cytosquelette comme la bande 4.1 et l'adducine. *Le réseau est ici réduit à quelques dimères alors qu'il est normalement beaucoup plus dense.*

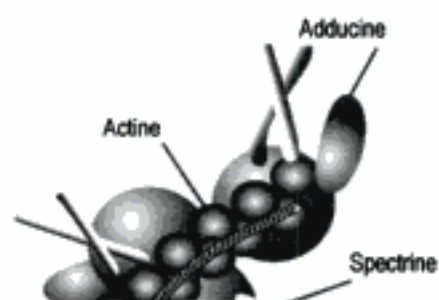


Fig. 9.18

Bordas et al.

9. Fécondation

Juste avant la fécondation, chez l'oursin, un tube se différencie dans la partie antérieure du spermatozoïde, en avant de l'acrosome. Ce tube acrosomien est indispensable à la fusion des membranes plasmiques des deux cellules germinales. C'est une expansion membranaire contenant de très nombreux MF.

10. Guidage intracellulaire

Les déplacements des organites dépendent des filaments d'actine qui servent de rails, comme le font aussi les MT. Les MF et la *myosine I* assurent les déplacements des organites. La myosine I, qui possède une seule tête et une queue, est responsable des mouvements de déplacement le long des MF. La myosine se fixe par sa queue sur l'organite à transporter et par sa tête sur un MF qui est ancré sur la membrane plasmique (fig. 9.19).

La migration s'effectue de l'extrémité négative à l'extrémité positive du MF, c'est-à-dire en direction de la membrane plasmique.

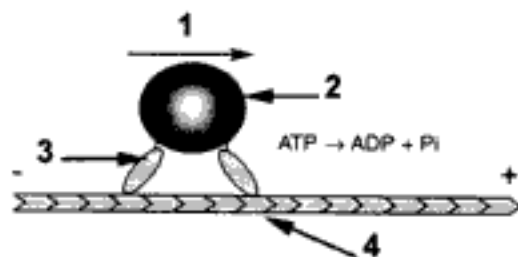


Fig. 9.19

Mouvements de déplacement des organites ou des vésicules.
L'hydrolyse de l'ATP est nécessaire au déplacement de la vésicule le long du microfilament. 1. Sens de déplacement. 2. Vésicules. 3. Myosine I. 4. Myofilaments d'actine.

11. Locomotion et contractilité

Les facteurs chimiotactiques modifient l'organisation des filaments d'actine et donc la direction du déplacement.

12. Modification de la perméabilité de la barrière trans-épithéliale

La barrière transépithéliale est constituée par l'ensemble des jonctions serrées (par exemple les entérocytes de l'épithélium intestinal). Les microfilaments d'actine s'insèrent sur les jonctions serrées qui sont imperméables. Il est possible que, lorsque les filaments d'actine subissent une tension relativement importante, des voies de passage se créent au travers de ces jonctions.

13. Modification de la viscosité du cytoplasme

Les MF contrôlent la viscosité du cytoplasme en s'organisant en réseaux (réticulation) (fig. 9.20).

La *filamine*, facteur de gélification, est constituée par un dimère de deux sous-unités de 270 kDa.

Ce facteur de gélification a la forme d'un filament de 3 à 5 nm de diamètre. En se fixant par ses deux extrémités sur les molécules d'actine, la filamine provoque une réticulation.



Fig. 9.20

Gélification du cytoplasme par liaison de la filamine avec les microfilaments d'actine.

1. Filaments d'actine. 2. Filamine.

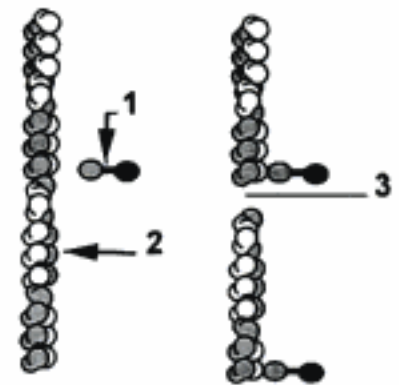


Fig. 9.21

Gelsoline.

Formation d'un col par rupture des MF par la gelsoline ou la villine. 1. Gelsoline.

2. Microfilament d'actine. 3. Fragmentation du MF d'actine.

La réticulation des MF par la filamine fige le cytoplasme et le transforme en une substance semi-solide, un gel.

La *gelsoline* (fig. 9.21) est un facteur de fluidification : en présence de calcium, la gelsoline, par fragmentation des MF et rupture des ponts créés par les facteurs de gélification, transforme un gel cytoplasmique en un sol.

Cette fragmentation des MF joue un rôle fondamental dans l'exocytose. En effet, les MF réalisent un véritable feutrage sous-membranaire qui s'oppose au passage des grains de sécrétion. Il est nécessaire que les MF soient localement détruits pour permettre aux grains de sécrétion de gagner la membrane plasmique. La gelsoline et le calcium libéré par le RE assurent une fragmentation des MF du cortex cellulaire et libèrent ainsi l'accès à la membrane. Par ailleurs, le déplacement des grains de sécrétion en direction de la membrane plasmique dépend de la myosine V et des MF insérés par leur extrémité positive sur la membrane.

14. Migration cellulaire

La quasi-totalité des *cellules animales*, à l'exception des spermatozoïdes dont le flagelle leur permet de nager dans un milieu liquide, se déplacent grâce à des *mouvements amiboïdes* sur un substrat. Ces mouvements

Les myosines

► Elles constituent une famille de protéines motrices dont on connaît 18 types numérotés de I à XVIII. La myosine II est présente dans les cellules musculaires. Les myosines possèdent deux domaines moteurs (deux têtes) à l'exception des myosines I, IX et XIV. Elles se déplacent toutes en direction de l'extrémité positive des MF à l'exception de la myosine VI.

dépendent essentiellement de l'actine. Le déplacement cellulaire se fait en trois étapes :

- la formation d'expansions cellulaires (filopodes, lamellipodes et pseudopodes) ou *protrusion* (fig. 9.21) ;
- la *fixation de la partie antérieure* de la cellule sur un support ;
- la *traction*, au cours de laquelle le cytoplasme, situé dans la partie postérieure (par rapport au sens de déplacement) de la cellule, est entraîné dans la partie antérieure.

La locomotion cellulaire dépend donc de ces trois activités qui se répètent pendant toute la période de migration.

a. Les différents types de protrusion

Les expansions cytoplasmiques ainsi produites peuvent se classer en trois types principaux :

- les *filopodes* (micropointes) qui sont de fines expansions de la membrane plasmique du cône de croissance des axones. Ils s'observent également dans certains types de fibroblastes. L'axe des filopodes est occupé par un filament d'actine ;
- les *lamellipodes* (fig. 9.22) qui sont des expansions lamellaires de la membrane plasmique des cellules épithéliales et des fibroblastes. Le cytoplasme des lamellipodes a une épaisseur d'une centaine de nanomètres. Ce cytoplasme est occupé par un réseau orthogonal de filaments d'actine disposés en un plan parallèle à celui du support ;
- les *pseudopodes* qui sont des expansions trapues formées par les amibes et les polynucléaires neutrophiles. Ils contiennent un réseau tridimensionnel d'actine.

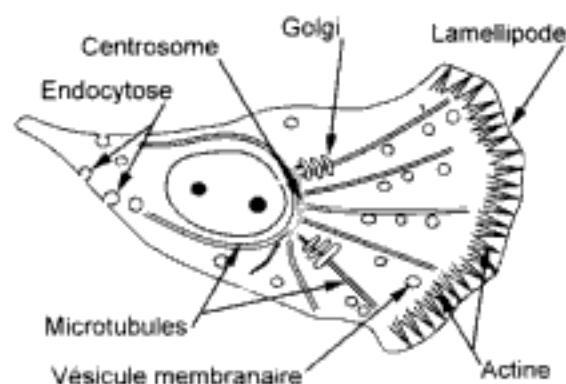


Fig. 9.22

Mouvement de déplacement.

L'extension des lamellipodes dépend de l'actine située au voisinage de la membrane plasmique du lamellipode. Le transport actif des vésicules membranaires dépend des microtubules.

b. Mécanismes intervenant dans le déplacement cellulaire

► Première étape

La protrusion de la membrane plasmique dépend essentiellement des propriétés dynamiques de l'actine.

Ce rôle est parfaitement démontré par les deux expériences suivantes :

- la cytochalasine, qui inhibe la polymérisation de l'actine, bloque la formation des protrusions ;
- des cellules épidermiques de batraciens, placées à la surface de milieu de culture, migrent et modifient leur forme au cours de leur déplacement. La partie antérieure prend la forme d'un lamellipode, alors que le corps cellulaire constitue la partie postérieure de la cellule. La microdissection permet d'isoler des fragments de lamellipode dépourvus de MT. L'absence de microtubules n'inhibe pas la migration.

Dans les *lamellipodes* ou les *pseudopodes*, un réseau de faisceaux serrés d'actine se met en place (fig. 9.23).

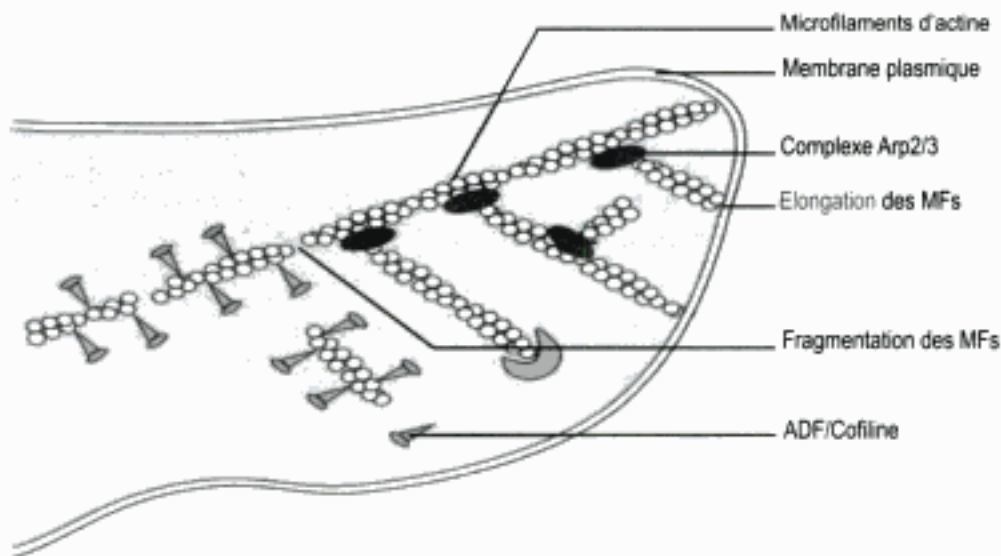


Fig. 9.23

Allongement d'un pseudopode.

Redessiné et adapté d'après T. D. Pollard.

Dans le réseau d'actine, les complexes Arps lient les extrémités moins aux côtés des MF. L'extrémité positive des MF est située en avant contre la membrane plasmique.

Les MF subissent les mouvements de *tapis roulant* (*treadmilling*). La nucléation des MF, qui se déroule au contact du bord antérieur (frontal) de la cellule en mouvement, pousse la membrane plasmique en avant. La protéine de coiffe met fin à l'élongation vers la partie antérieure de la cellule. La cofiline intervient dans la dépolymérisation des MF situés assez loin en arrière du bord antérieur. La cofiline ne désassemble pas les MF constitués par l'actine-ATP. En revanche les MF les plus anciens, dont l'actine est liée à l'ADP, sont sensibles à l'action de la cofiline. La cofiline se lie aux MF d'actine-ADP, les fragmentent et favorisent le désassemblage de l'actine-ADP. La profiline intervient dans la substitution de l'ADP par l'ATP, ce qui accroît le nombre de molécules d'actine-ATP non polymérisées (du pool), liées à la profiline.

Afin de pouvoir couvrir complètement ces lamellipodes qui s'allongent, un véritable *flux membranaire* se crée entre la membrane plasmique de la partie postérieure et celle de la partie de la cellule. Dans la partie postérieure, des vésicules limitées par la membrane plasmique se forment par endocytose, gagnent la partie antérieure et s'incorporent dans la membrane par exocytose.

► Deuxième étape

La protrusion du bord frontal de la cellule s'attache au substrat. La nature de la structure qui attache la cellule sur le substrat dépend de la vitesse de déplacement de la cellule. Ainsi, lorsque le déplacement est rapide (polynucléaires neutrophiles), les zones de contact sont diffuses (leur composition est mal connue) : lorsque le déplacement est lent (fibroblaste), il se forme des points d'adhérence focale.

► Troisième étape

Le corps cellulaire est tiré en avant. Ce mouvement pourrait dépendre de la myosine II. Il se déroule très mal chez l'amibe *Dictyostelium* dont les gènes codant pour la myosine II sont mutés : cela semble indiquer que la myosine II jouerait un rôle dans la traction de la partie postérieure de la cellule. Malgré tout, le mécanisme d'action de la *myosine II* dans la génération des forces nécessaires pour tirer le corps cellulaire en avant reste encore un sujet de spéculation.

► Mouvement polarisé

La migration cellulaire polarisée est contrôlée par des signaux externes de nature chimique. C'est la chimiotaxie.

► Polarisation de la mobilité cellulaire

Le fibroblaste, au cours de sa migration, est une cellule polarisée : la partie de la membrane plasmique, située à l'avant de la cellule par rapport à la direction du déplacement, possède de très nombreux filopodes sur des projections en forme de doigt de gant dont l'axe est également occupé par des faisceaux serrés d'actine. Les filopodes sont des expansions adhérant au substrat. Au cours des mouvements de migration, l'ARNm codant pour l'actine est transporté au *voisinage de la membrane plasmique* qui limite la partie antérieure de la cellule. La synthèse de l'actine se fait donc localement, dans la région où elle est nécessaire. L'actine subit des cycles rapides de polymérisation/dépolymérisation. La localisation de l'ARNm de l'actine β dépend des microfilaments d'actine. Cette localisation est importante puisqu'elle permet la mise en place d'une boucle positive de rétrocontrôle.

► Polarité cellulaire

Il s'agit de la propriété des cellules animales ou végétales qui possèdent deux pôles ayant une signification physiologique différente. Par exemple, les entérocytes sont des cellules polarisées, dont le pôle apical est caractérisé par la présence de faisceaux denses de filaments d'actine qui constituent la charpente des microvillosités. Ces microvillosités favorisent

l'incorporation des nutriments en augmentant considérablement la surface de la membrane plasmique.

▷ Rassemblement des récepteurs membranaires

Dans la membrane plasmique, les protéines intramembranaires peuvent se déplacer latéralement sur des distances plus ou moins importantes. Les agents pharmacologiques responsables de l'altération des microfilaments d'actine inhibent les déplacements latéraux de ces protéines. Des molécules de myosine associée à l'actine apporteraient l'énergie nécessaire à ces déplacements.

15. Stabilisation de la membrane plasmique

Dans les cellules musculaires, les molécules de dystrophine constituent un réseau qui relie des glycoprotéines intrinsèques de la membrane plasmique (complexe sarcoglycane et complexe dystroglycane) et les filaments d'actine proches de la face interne de la membrane plasmique aux molécules de laminine α_2 et d'agrine contenues dans la lame basale. Les molécules d'intégrine α_2 relient les complexes dystroglycane à la lame basale.

16. Invasions bactériennes entérocytaires

Des bactéries pathogènes utilisent l'actine de la cellule (fig. 9.24) qu'elles ont envahie pour se déplacer. Immédiatement après leur entrée dans la cellule, ces bactéries sont internalisées dans des vacuoles (phagosomes).



Fig. 9.24

Déplacement intracellulaire des *Listeria* grâce à l'actine de la cellule hôte.

Listeria monocytogenes et *Shigella flexneri* se déplacent dans le cytoplasme grâce à la polymérisation de l'actine de la cellule hôte, l'assemblage continu des monomères à l'extrémité positive (proche de la bactérie) et leur libération à l'extrémité négative qui produisent une force de propulsion. Cette motilité produite par la polymérisation de l'actine requiert la présence des protéines bactériennes ActA et IcsA.

ActA (90 kDa) et IcsA (120 kDa) sont respectivement des protéines de la membrane externe de *L. monocytogenes* et de *S. flexneri*, indispensables à l'interaction de ces bactéries avec l'actine de la cellule hôte. Chez *L. monocytogenes*, les mutations de ActA inhibent complètement la polymérisation de l'actine G, la formation de la queue et le mouvement. Il en est de même pour IcsA chez *S. flexneri*.

N. Contrôle extracellulaire du cytosquelette d'actine

1. Rôle des protéines de la famille Rho

La stimulation de récepteurs membranaires contrôle l'organisation et la distribution des MF dans la cellule. La fixation d'un ligand sur ces récepteurs active des GTPases monomériques qui appartiennent à la famille

des *Rho*. Il s'agit des protéines *cdc42*, *Rac* et *Rho*. La forme activée des protéines *Rho* est liée à GTP, la forme inactivée à GDP. Ainsi, *cdc42-GTP* (forme activée) déclenche la polymérisation de l'actine et la formation de faisceaux serrés qui interviennent dans la formation des filopodes, *Rac-GTP* déclenche la polymérisation de l'actine dans le cortex cellulaire et la formation de lamellipodes et *Rho-GTP* déclenche la formation de fibres de stress et points de contact focaux. Ces formes activées agissent sur des protéines cibles, les *protéines adaptatrices de l'actine*.

2. Exemple de protéines adaptatrices

a. Définition

Les protéines adaptatrices de l'actine sont des protéines qui reçoivent des protéines de signalisation appartenant à la famille des protéines *Rho* et modifient l'arrangement et l'organisation de l'actine, en activant par exemple les protéines Arp.

b. Mécanisme d'action de la protéine WASp

WASp (*Wiskott-Aldrich Syndrom protein*; protéine du syndrome de Wiskott-Aldrich) est une protéine adaptatrice dont l'activité est contrôlée par des stimuli extracellulaires. La transmission de l'information depuis le récepteur membranaire est réalisée par une petite protéine G de la famille *Rho*, une GTPase qui active la protéine *WASp*. La protéine *WASp* active à son tour le complexe Arp2/3 qui déclenche la nucléation de nouveaux MF sur le côté des MF préexistants.

c. Pathologie et découverte du gène WAS

Le gène *WAS* a été découvert grâce aux recherches réalisées sur le syndrome de Wiskott-Aldrich qui est provoqué par une mutation d'un gène porté par le chromosome X. Ce syndrome est caractérisé par une immunodéficience sévère. Les lymphocytes ne contiennent presque plus de faisceaux d'actine, car la polymérisation de l'actine G n'a plus lieu. La membrane plasmique de ces plasmocytes n'émet que de très rares expansions digitiformes : ils ne peuvent plus migrer. Les plaquettes sanguines (thrombocytes) mal formées (à cause de l'absence de MF dans le cortex cellulaire) sont rapidement détruites dans la rate.

III. L'actine des fibres musculaires striées

Les myocytes striés (fig. 9.25) contiennent, dans leur sarcoplasme (cytoplasme), des structures permanentes spécialisées dans la contraction : les myofibrilles.

A. Myofibrilles

Les myofibrilles sont des structures différenciées, formées par l'association de *myofilaments épais* constitués par des molécules de myosine et des *myofilaments fins* composés par des molécules d'actine, capables de se raccourcir sous l'influence d'un stimulus. Elles contiennent également des filaments de *titine* qui maintiennent les myofilaments de myosine en place et des filaments de *nébuline* qui régulent l'assemblage des myofilaments d'actine.

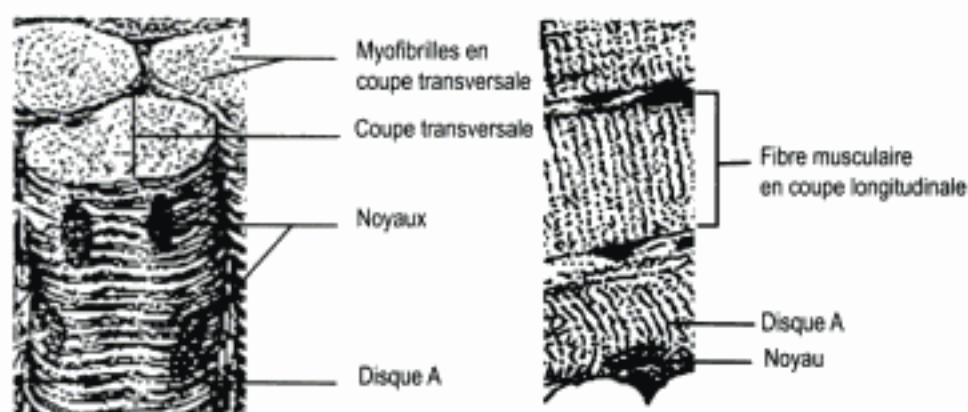


Fig. 9.25

Fibres musculaires striées en microscopie optique.

À gauche, représentation tridimensionnelle des fibres musculaires striées. À droite, coupe longitudinale.

B. Myofilaments épais

Les myofilaments de myosine ont une longueur de $1,5 \mu\text{m}$ et un diamètre de 10 nm .

Ils sont constitués par l'association de molécules de myosine II.

La *myosine II* est une longue molécule asymétrique. Son poids moléculaire est de 450 kDa .

Chaque molécule contient six chaînes polypeptidiques : deux chaînes lourdes identiques et deux paires de chaînes légères (fig. 9.26). Elle comporte deux têtes globulaires attachées à l'extrémité d'une double chaîne polypeptidique qui a une configuration d'hélice α .

La papaine, enzyme protéolytique, coupe la molécule de myosine en un long segment en hélice appelé méromyosine lourde HMM et en deux têtes de myosine globulaires séparées, également appelées sous-unité *S1* capables de l'unir aux molécules tout le long du MF.

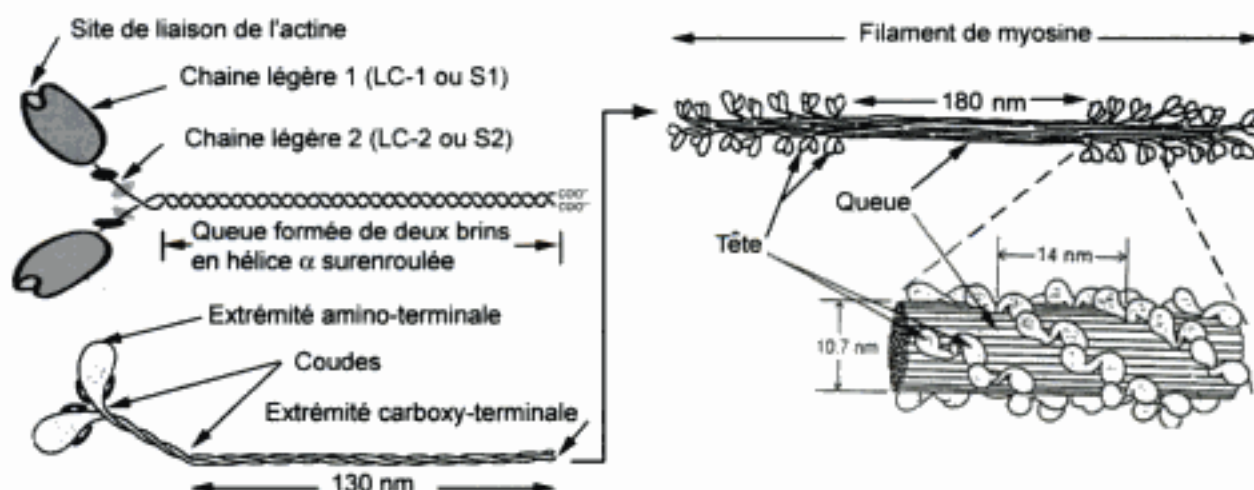


Fig. 9.26

Organisation moléculaire d'un filament de myosine.

Le corps du myofilament de myosine renferme la méromyosine légère. Les têtes globulaires (segments S1) sont tournées vers chacune des extrémités du filament de myosine. Les têtes globulaires forment des ponts tournés vers l'extérieur, disposés en une hélice dont le pas est de 42,9 nm, chaque segment S1 étant séparé du plus proche par une distance de 14,3 nm.

C. Myofilaments fins

Les myofilaments fins ont une longueur de 1 μm et un diamètre de 5 à 7 nm. Ils sont constitués par de l'actine F. Dans chacune des gouttières en spirale des MF, des molécules de *tropomyosine*, d'une longueur de 40 nm sur 2 nm de diamètre, sont placées bout à bout. La *tropomyosine* est une molécule fibrillaire formée par deux chaînes polypeptidiques en hélice. Les microfilaments fins contiennent également des molécules de *troponine* (86 kDa), une protéine globulaire ayant une forte affinité pour le calcium. Ces molécules s'accrochent à l'actine F par paires placées à intervalles réguliers (38,5 nm). Chaque microfilament d'actine est porteur de 48 paires de molécules de *troponine*.

D. Structure des myofibrilles

1. Généralités

Les *myofibrilles* ont un diamètre de 1 à 2 μm . Elles parcourent longitudinalement la fibre musculaire d'une extrémité à l'autre : une faible quantité de sarcoplasme les sépare les unes des autres. Les myofibrilles constituent la partie essentielle du muscle : on en compte 100 millions par cm^3 de muscle chez l'homme.

Chaque myofibrille est constituée par l'association linéaire de sarcomères.

2. Sarcomère

Le sarcomère est l'unité morphologique et contractile des myofibrilles des fibres musculaires squelettiques (ou rhabdomyocytes) et des myocytes cardiaques.

a. Structure et répartition des myofilaments (fig. 9.27)

Chaque sarcomère comprend :

- le *disque A* (anisotrope en lumière polarisée) sombre, d'une longueur de 1,5 μm : il est divisé en deux demi-disques par une *zone claire H* (*Hensen*) occupée en son milieu par une ligne sombre, la *ligne M* (*Mittelmembran*) ; le disque A occupe le milieu du sarcomère. Le disque A est constitué par des myofilaments de myosine et d'actine. Les myofilaments de myosine, disposés parallèlement à l'axe des myofibrilles, occupent la totalité du disque. Les extrémités des *myofilaments d'actine* occupent chacune deux demi-disques ;
- deux *demi-disques I* qui ne contiennent pas de myofilaments de myosine mais uniquement des myofilaments d'actine. Ils sont situés de part et d'autre du disque A qu'ils séparent des stries Z sur lesquelles ils s'insèrent ;
- les *disques I* (isotropes) d'une épaisseur de 0,8 μm , occupés dans leur partie moyenne par une strie Z (*Zwischenscheibe*) ;
- les *stries Z* constituées par des faisceaux de filaments intermédiaires de *desmine* et régulièrement espacées, qui délimitent les sarcomères.

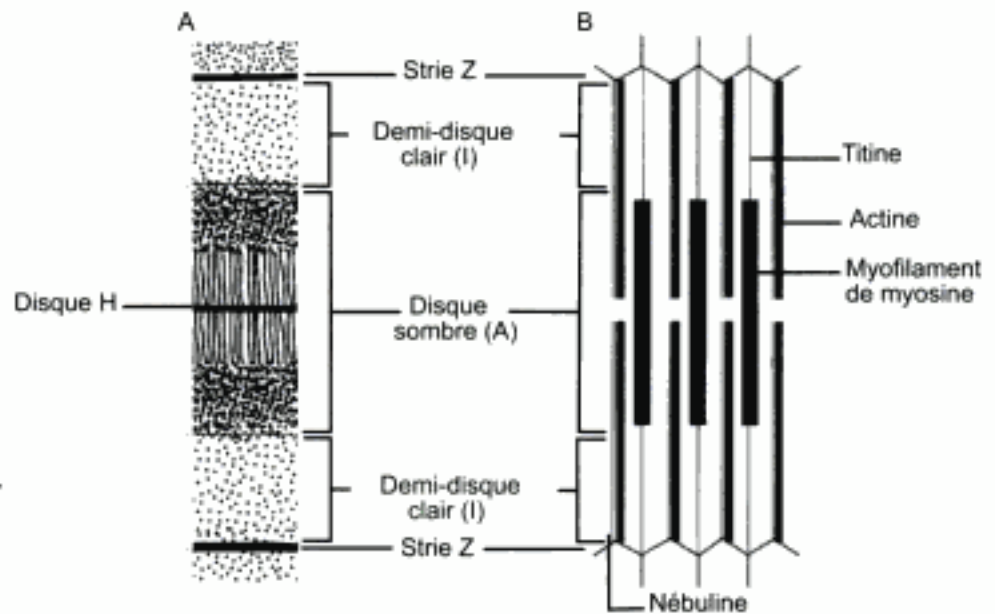


Fig. 9.27

Organisation d'une myofibrille.

A. Myofibrille en microscopie optique.

B. Myofibrille en microscopie électronique.

b. Protéines de stabilisation des myofilaments du sarcomère

À ces deux types principaux de myofilaments s'associent la *titine* qui est une des plus volumineuses molécules fibrillaires connues actuellement (3 000 kDa), la *nébuline* et la *dystrophine*.

► Titine

Les molécules de *titine* partent de la strie M, longent les myofilaments de myosine, traversent le demi-disque A pour s'achever sur la strie Z. Une telle disposition permet de comprendre que les filaments de titine retiennent les myofilaments de myosine dans la partie centrale de la case musculaire. La titine est responsable de la tension produite par un muscle décontracté.

► Nébuline

Des molécules de *nébuline*, une protéine de stabilisation, s'associent aux MF sur toute leur longueur, depuis la strie Z jusqu'à leur extrémité située au centre du sarcomère. Leur rôle est assez mal connu. La nébuline interviendrait dans la régulation de l'assemblage des filaments d'actine en agissant comme des règles qui déterminent leur longueur.

► Dystrophine

Actuellement, trois dystrophines ont été mises en évidence : la dystrophine M musculaire (fig. 9.28), la dystrophine P (cellule de Purkinje) et la dystrophine C (cortex cérébral et hippocampe).

La *dystrophine M* est un homodimère protéique de 427 kDa qui possède de nombreuses similarités avec la spectrine. Elle comprend deux chaînes enroulées sur elles-mêmes. L'extrémité aminoterminal d'une chaîne est voisine de l'extrémité carboxyterminale de l'autre chaîne.

Une lame basale entoure chaque fibre musculaire striée. Les molécules de *dystrophine* associent les MF aux molécules de *laminine* de la lame basale. Les extrémités aminoterminal et carboxyterminale d'un des deux monomères se fixent chacune sur un complexe glycoprotéique transmembranaire de la membrane plasmique, tandis que chacune des extré-

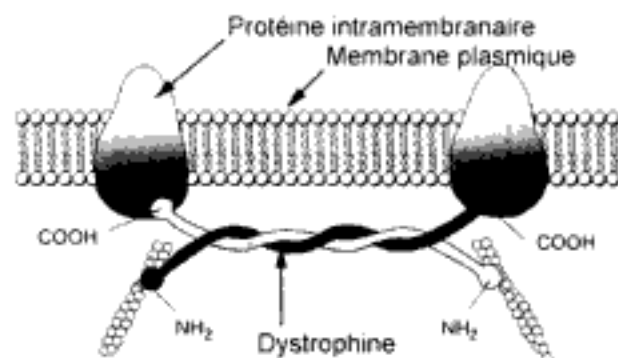


Fig. 9.28

Molécule de dystrophine.

Cette molécule relie, par les extrémités carboxy- et aminotermiales, deux MF cytosquelettiques à deux molécules intrinsèques membranaires.

mités de l'autre monomère se lie à un MF. Il y a donc deux complexes glycoprotéiques transmembranaires pour une molécule de dystrophine. Chaque complexe glycoprotéique traverse la membrane plasmique pour s'unir à une molécule de laminine de la matrice extracellulaire.

Les mutations des gènes codant la *dystrophine M* sont la cause de myopathies très graves qui conduisent à la destruction du tissu musculaire (*maladie de Duchenne*). La conduction cardiaque est profondément affectée par l'absence de dystrophine P au voisinage des membranes.

E. Mécanisme moléculaire de la contraction

Les mouvements de contraction ou de relaxation se produisent *sans modification de longueur* des MF et des myofilaments de myosine (fig. 9.29).

Ces mouvements de contraction sont la conséquence du glissement des MF par rapport aux myofilaments de myosine. Le segment S1 de la *méromyosine lourde* se fixe sur les sites récepteurs de l'actine pour former un complexe d'actomyosine. Cette combinaison implique :

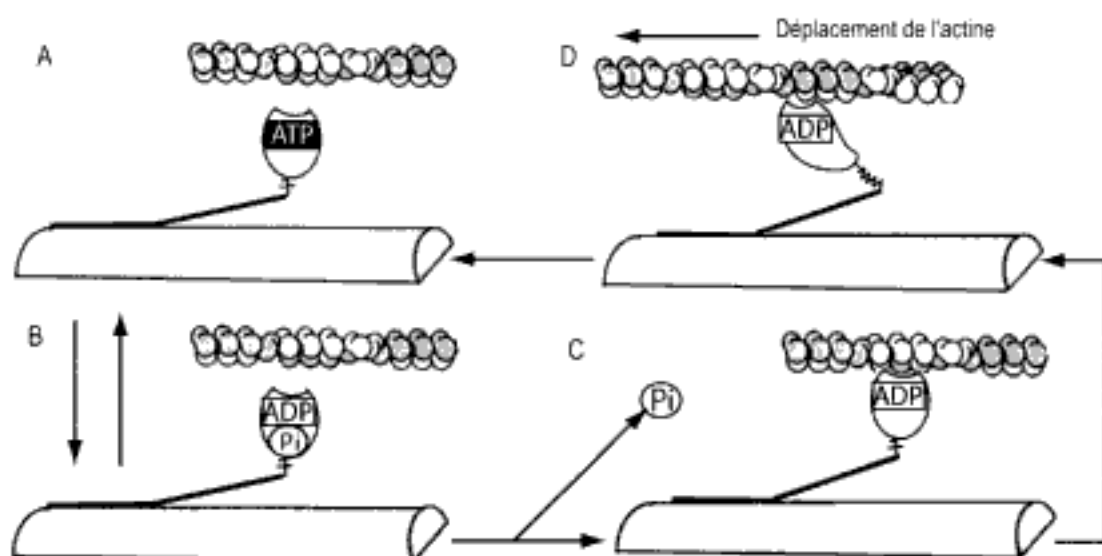


Fig. 9.29

Mécanisme de la contraction.

A. La chaîne LC-1 (tête de la myosine) est liée à de l'ATP. Elle est hydrolysée en ADP et P_i . **B.** ADP et P_i restent liés à la chaîne LC-1. La réaction d'hydrolyse est réversible. **C.** P_i est libérée de la tête et se lie à l'actine. **D.** La tête de myosine change de conformation créant ainsi un couple moteur. L'ADP est libérée et l'ATP s'associe à la tête qui perd son affinité pour l'actine et s'en détache.

- la *fixation de l'ATP* par les têtes de la myosine II ;
- un *démasquage* des sites récepteurs de la myosine sur l'actine par le Ca^{++} : le calcium est libéré brusquement du réticulum sarcoplasmique (réticulum endoplasmique musculaire) grâce à des canaux ioniques (canaux de libération du Ca^{++}) ; le Ca^{++} se fixe sur la *tropomyosine* et déplace la *tropomyosine* qui protégeait les sites récepteurs des segments S1 (fig. 9.30) ;
- une modification conformationnelle de la tête de myosine (LC-1), qui fait glisser les MF : elle est provoquée par l'hydrolyse de l'ATP fixée sur le site catalytique de la myosine ;
- que le segment S1 de la myosine ne se détache de l'actine que si une nouvelle molécule d'ATP s'y fixe.

La relaxation se produit lorsque le Ca^{++} abandonne la tropomyosine : la tropomyosine se déplace et masque à nouveau les sites d'attachement de l'actine située sur la myosine.

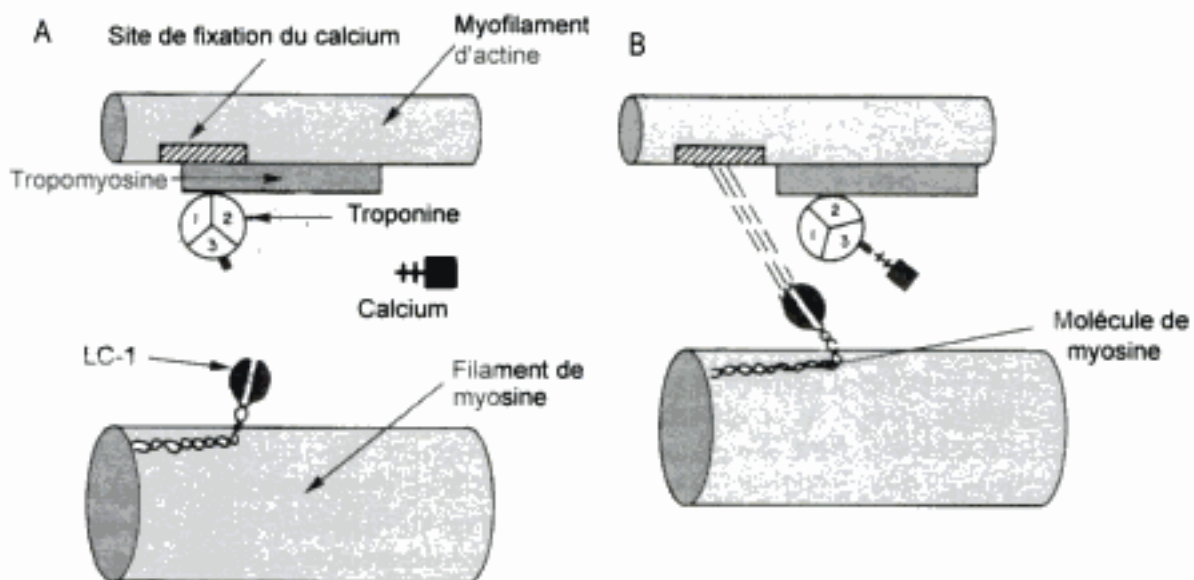


Fig. 9.30

Interaction actine-myosine.

A. Repos. B. Contraction : démasquage des sites de fixation pour la myosine.

IV. Les filaments intermédiaires

A. Définition

Les filaments intermédiaires sont des fibres résistantes, non ramifiées, à surface lisse, composées par des molécules fibrillaires stables d'un diamètre de 8 à 10 nm, intermédiaire entre celui de l'actine (7 nm) et celui des microtubules (25 nm), qui existent dans le nucléoplasme et le cytoplasme de toutes les cellules animales. Ils sont absents chez les eucaryotes unicellulaires où il existe des réseaux fibrillaires dont les constituants présentent des analogies de structure ou de fonction avec les IF : ils ne semblent pas exister dans les cellules végétales.

B. Propriétés

Les IF, solides et insolubles, sont les éléments du cytosquelette les plus stables et les plus permanents, *non impliqués directement* dans les mouvements cellulaires. Ils agissent comme des haubans, s'opposent à l'étirement, contribuent à la formation des desmosomes. Ils jouent un rôle dans l'association mécanique des cellules à l'intérieur des tissus.

C. Localisation

Dans les *cellules épithéliales*, les IF se disposent autour du noyau, qu'ils entourent à la manière d'une corbeille, et sous la membrane plasmique. Ils s'insèrent sur des protéines intramembranaires par l'intermédiaire de protéines extrinsèques cytoplasmiques. Ils s'étendent depuis la région périnucléaire jusqu'à la périphérie cellulaire. Dans les cellules épithéliales, ils se fixent sur les plaques cytoplasmiques des desmosomes (IF de cyto-kératine) et jouent un rôle mécanique en renforçant la solidité.

Dans les *axones* des cellules nerveuses, ils forment une sorte d'armature. Dans les *cellules musculaires striées squelettiques*, les IF (desmine) unissent la face interne de la membrane aux myofibrilles et interviennent dans la transmission des forces développées au cours de la contraction ou de la relaxation.

Dans le *noyau*, des IF, les filaments de *lamine*, localisés contre la membrane interne de l'enveloppe nucléaire, constituent le nucléosquelette (voir chapitre 4, p. 84). La fixation sur la face interne de l'enveloppe nucléaire dépend de récepteurs spécifiques.

Leur nombre augmente dans les cellules soumises à des contraintes mécaniques.

D. Constitution des filaments intermédiaires

Les IF sont des polymères stables (fig. 9.31). Ils sont :

- soit des *homopolymères*, qui regroupent les protéines suivantes : la *vimentine*, la *desmine*, le *GFA* ou *GFAP*, la *périphérine* ;
- soit des *hétéropolymères*, parmi lesquels on distingue la *cytokératine*, les *neurofilaments*.

Les IF sont formés par 8 *protofilaments parallèles* (fig. 9.31).

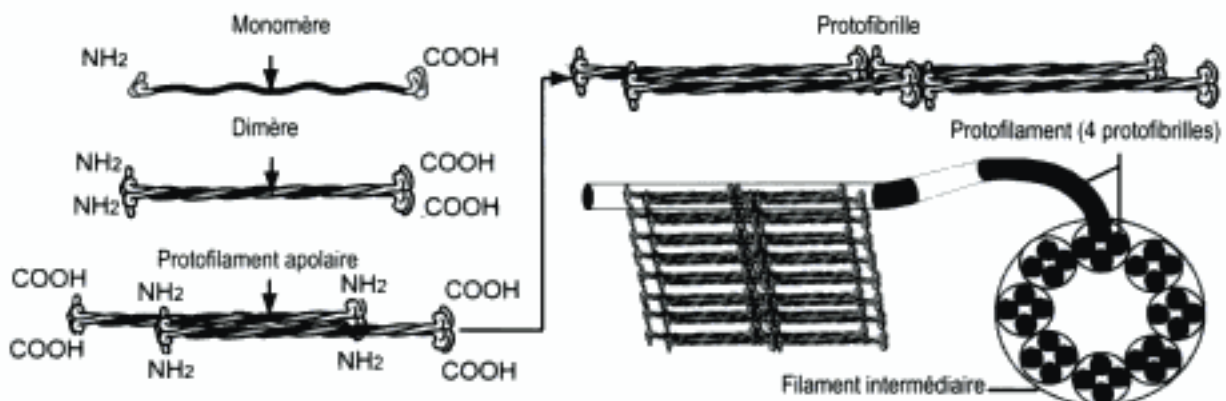


Fig. 9.31

Organisation générale des filaments intermédiaires.

L'unité de base des IF est un *monomère* qui possède une partie centrale hélicoïdale (identique pour les divers types) et deux extrémités carboxy et aminotermiales. La partie centrale comprend 310 résidus d'acides aminés, interrompue par trois régions dans lesquelles la disposition des résidus n'est pas hélicoïdale. Les régions hélicoïdales sont identiques pour les quatre types (voir *infra*, « Classification »). Les monomères s'enroulent l'un autour de l'autre pour constituer des dimères. Les dimères s'associent antiparallèlement pour former un tétramère de deux dimères surenroulés. Plusieurs tétramères disposés bout à bout forment un protofilament.

E. Classification

1. Généralités

Les filaments intermédiaires sont constitués par une très grande variété de protéines exprimées chacune dans des types cellulaires différents. Actuellement plus d'une cinquantaine de protéines ont été isolées et classées en six groupes en fonction des séquences d'acides aminés qui leur sont communes.

2. Type I et type II

a. Définition

Ces deux types regroupent les kératines :

- le *type I* est une famille de kératines acides regroupant 16 isoformes (K9 à K20, Ha1 à Ha4, Hax, kératine des trichocytes) ;
- le *type II* est une famille de kératines neutres et basiques comprenant 13 isoformes K1 à K8, Hb1 à Hb4, Hbx.

b. Cytokératines

Les filaments de cytokératine sont des protéines fibrillaires élaborées par les kératinocytes, présents dans le cytoplasme de ces cellules (par opposition aux kératines devenues extracellulaires comme les ongles ou les cheveux).

► Diversité et localisation

Les cytokératines constituent, dans les kératinocytes, des faisceaux dont les extrémités sont ancrées dans les plaques denses desmosomales. Les kératinocytes des épithéliums malpighiens subissent une évolution qui transforme les kératinocytes basaux (cubiques ou prismatiques) en kératinocytes pavimenteux anucléés situés à la surface de l'épithélium. Les cytokératines diffèrent en fonction du degré d'évolution du kératinocyte. Par exemple les kératines K5 et K14 existent dans la couche basale, K1, K6, K11, K16 dans le corps muqueux de Malpighi, K9 dans la couche granuleuse.

► Assemblage

L'analyse des séquences d'acides aminés montre des segments répétitifs constitués par sept acides aminés, dont le premier et le quatrième sont hydrophobes, le cinquième et le septième sont hydrophiles. Les sept acides aminés représentent deux tours de l'hélice α , ce qui signifie que les

premiers et les quatrièmes acides aminés hydrophobes se disposent suivant une génératrice susceptible d'interagir avec d'autres génératrices polypeptidiques pour former des structures superhéliçoidales très résistantes. Les filaments de cytokératine sont en effet plus résistants que tous les autres IF.

► Rôle mécanique et protecteur

Dans les cellules épidermiques, les IF de cytokératine réunissent les desmosomes les uns avec les autres : ils augmentent ainsi la résistance et la solidité de ces cellules épithéliales. Il en est de même dans d'autres cellules épithéliales comme les entérocytes.

En effet, les IF de cytokératine s'insèrent sur des molécules de *plakoglobine*, qui s'associent en une plaque dense voisine et parallèle à la membrane plasmique. Les molécules de plakoglobine s'accrochent à leur tour à des *cadhérines* desmosomales transmembranaires, dont les extrémités entrent en contact avec les molécules de cadhérine de la cellule voisine (voir chapitre 8, p. 142).

3. Type III

Le type III comprend la vimentine, la desmine, la protéine acide fibrillaire de la névroglie, la périphérine.

a. Vimentine

La *vimentine* (54 kDa) est une molécule filamenteuse intermédiaire, caractéristique des cellules d'origine mésenchymateuse.

La vimentine est localisée principalement dans les cellules d'origine mésenchymateuse qui recouvrent, à la manière d'un épithélium, les séreuses pleurale, péricardique, péritonéale, dans les cellules endothéliales vasculaires, dans les fibroblastes, les fibrocytes, les chondrocytes, etc. Mais la vimentine existe aussi dans quelques épithéliums. Il faut signaler que, très tôt au cours de l'embryogenèse, les neuroblastes (neurones immatures) contiennent de la vimentine qui est rapidement remplacée par des neurofilaments courts après les dernières mitoses des neurones immatures. Ces filaments sont souvent en rapport avec la membrane plasmique, les desmosomes ceinturants.

L'absence de vimentine dans le cytosquelette de *cellules de souche vim* (abréviation de vimentine) modifie la morphologie du noyau. Son enveloppe s'invagine en plusieurs points. Au cours de la mitose, les filaments de vimentine s'associent avec les vésicules mitotiques qui transportent la lamine B. La vimentine sert de site temporaire d'arrimage pour les vésicules de la membrane nucléaire interne. Dans les *adipocytes*, les filaments intermédiaires de vimentine forment une sorte de cage autour de la graisse (ces réserves lipidiques ne sont pas limitées par une cytomembrane), ce qui évite aux différentes gouttelettes lipidiques de s'agglutiner. Les IF de vimentine maintiendraient donc en place le noyau et l'ensemble des autres organites cellulaires.

b. Desmine

La desmine (53 kDa) est une molécule filamenteuse intermédiaire, caractéristique des cellules musculaires (lisses ou striées), où elle relie les myofibrilles à la membrane plasmique et aux jonctions neuromusculaires.

Les *fibres musculaires striées*, au cours de la *myogenèse* ou au cours de la régénération, contiennent une grande quantité de desmine : elle est exprimée en même temps que la vimentine. Dans les fibres musculaires squelettiques adultes, les IF de desmine unissent les stries Z voisines les unes aux autres et à la membrane plasmique, de telle façon que les disques A et les disques I des différentes myofibrilles sont situés au même niveau.

De nombreuses myopathies familiales se caractérisent par une accumulation de desmine et d'ubiquitine dans des corps sphéroïdes ou granulo-filamenteux.

c. GFAP

Les GFAP (50 kDa) sont des molécules filamenteuses intermédiaires, caractéristiques des cellules d'origine neurectodermique, qui constituent la névroglie du système nerveux central (astrocytes et microglie) et du système nerveux périphérique (cellules de Schwann des fibres amyéliniques).

d. Périphérine

C'est une molécule filamenteuse intermédiaire (57 kDa), caractéristique des neurones au cours du *développement embryonnaire* et de leur régénération. Elle existe aussi dans les tissus adultes, mais en très faible quantité.

Elle n'est pas classée avec les neurofilaments car elle présente de très nombreuses homologies structurales avec les IF de type III.

Au cours du développement embryonnaire, la *périphérine* est localisée dans les neurones du système nerveux central et périphérique. Elle est cependant plus abondante dans les cellules nerveuses en contact avec les tissus périphériques. Chez l'adulte, sa synthèse est accrue dans les neurones en cours de régénération.

La périphérine intervient dans la régénérescence des neurones. Au cours de la *régénérescence d'un axone*, la quantité de NGF élaboré augmente. La stimulation du neurone par le NGF provoque d'une part une phosphorylation de la périphérine et, d'autre part, l'activation transcriptionnelle de son gène. Cette phosphoprotéine devient alors la protéine majeure du cytosquelette des neurones.

Elle pourrait jouer un rôle dans la reconnaissance du chemin axonal par l'intermédiaire des protéines membranaires qui transmettraient des informations.

4. Type IV : neurofilaments

a. Définition

Les NF sont des filaments intermédiaires, localisés dans les neurones, qui s'associent à des microtubules de l'axone. Il existe trois isoformes : NF-L (*light* ; léger), NF-M (*medium* ; moyen), NF-H (*heavy* ; lourd).

b. Fonctions

Ils représentent 25 % des protéines de l'axone. Ils interviennent, avec les neurotubules, dans les transports intra-axonaux (*flux axonal*).

Les neurofilaments interviennent dans la rigidité et la résistance des axones et également dans le transport axonal de molécules depuis le péricaryon jusqu'à l'extrémité de l'axone. Ils déterminent le diamètre de l'axone. En effet, la phosphorylation de NF-H et de NF-M ajoute à ces microfilaments des groupements phosphate, donc des charges négatives. Les forces répulsives, générées par augmentation des charges négatives, assurent la constance du diamètre axonal. Ainsi, les NF des fibres nerveuses myélinisées d'une souche de souris (*trembler mice* ; souris tremblante) sont moins phosphorylées que dans l'espèce sauvage. Les NF apparaissent également moins espacés. Un espace minimum de 25 nm favorise l'action des forces répulsives.

c. Implications pathologiques

L'accumulation excessive de NF, provoquée essentiellement par un ralentissement du flux neuronal dans le péricaryon et dans la partie proximale de l'axone, conduit à un dysfonctionnement et à une dégénérescence neuronale. Une mutation de la superoxyde dismutase (cette enzyme enlève l'ion superoxyde $O_2^{\cdot -}$ toxique, généré pendant le métabolisme aérobie) provoque une accumulation de NF : cette mutation est responsable de 20 % des scléroses latérales amyotrophiques familiales.

5. Type V : lamines nucléaires

a. Définition

Les lamines sont des filaments intermédiaires qui constituent le cytosquelette du noyau. Il existe quatre isoformes : les lamines de types A et C, les lamines de type B (lamines B1, B2).

Les lamines diffèrent des autres protéines de filaments intermédiaires non seulement par leur localisation mais aussi par leur disposition : elles forment un réseau orthogonal situé immédiatement sous la membrane nucléaire interne.

b. Localisation

Ces IF dessinent un réseau tridimensionnel qui recouvre complètement la face interne de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire, à l'exception des pores.

c. Fonctions

Ces IF maintiennent la forme du noyau et servent d'ancrage aux extrémités monocaténares des molécules d'ADN (les lamines A et C interviendraient dans cet ancrage). La lamine B ne possède aucune affinité pour les nucléotides.

Ils interviennent dans la mitose (la déphosphorylation des résidus tyrosine des lamines, au moment de la prophase, provoque leur dépolymérisation et la fragmentation de l'enveloppe nucléaire). Pendant la mitose, les lamines A et C se fixent sur des sites de liaisons spécifiques des chromosomes mitotiques : cette fixation permettra aux lamines d'intervenir au moment de la reconstruction du noyau et en particulier de l'enveloppe nucléaire.

6. Type VI : nestine

Ce type est représenté, actuellement, par une seule protéine qui est exprimée au cours du développement embryonnaire par les cellules souches neuronales et les neurones immatures. La nestine est donc transitoirement exprimée dans les seuls neuroblastes du système nerveux central (une autre classification place la nestine dans le type IV). Elle est utilisée comme un marqueur des cellules capables de se différencier soit en cellules neuronales, soit en cellules gliales (astrocytes et oligodendrocytes), et comme marqueur de la différenciation des cellules ES (cellules progénitrices neuroendocrines).

F. Protéines associées aux filaments intermédiaires

1. Définition

Les IFAP sont des protéines de liaison des IF qui interviennent dans la formation de réseaux ou de faisceaux en les associant les uns avec les autres et également avec d'autres structures cellulaires comme la membrane plasmique.

2. Fonctions

Aucune IFAP, actuellement connue, ne coupe, ne coiffe, ne séquestre les protéines des IF dans un pool soluble ou agit comme une protéine motrice. Les IFAP jouent un rôle organisateur du cytosquelette : elles attachent les IF à la membrane nucléaire externe et à la membrane plasmique, surtout au niveau des jonctions cellulaires.

Les IF sont associés pratiquement d'une manière permanente à des protéines fibrillaires comme la filaggrine, la plectine.

3. Filaggrine

La filaggrine est une phosphoprotéine matricielle exprimée dans les cellules épidermiques (kératinocytes). Cette protéine est dépourvue d'acides aminés soufrés : elle est riche en histidine et en arginine. Elle joue un rôle important au cours de la kératinisation dans la mesure où elle intervient dans l'agrégation des IF de kératine et la formation de faisceaux serrés de cytokératine dans les kératinocytes épidermiques. La filaggrine est synthétisée dans la couche granuleuse.

4. Plakines

Les plakines sont responsables des liaisons des IF avec les MT et le MF. La plectine (une plakine) est une protéine abondante, quasi ubiquitaire, de 300 kDa capable de se fixer à la fois sur diverses protéines des IF et sur des MF et des MT. Cette fixation est gouvernée par des processus de phosphorylation. La plectine interagit également avec d'autres protéines cytosquelettiques comme la spectrine, les MAP et la lamine B.

V. Les microtubules

A. Définition

Les microtubules sont des structures cylindriques creuses, rigides, jamais bifurquées (fig. 9.32), présentes dans une très grande majorité de cellules eucaryotes, constituées par de longs polymères polaires rigides d'hétérodimères de sous-unités α et β , qui possèdent une extrémité positive distale (proche de la membrane cellulaire) et une extrémité négative. Les microtubules sont des structures soit labiles (MT du fuseau mitotique), soit stables (MT de l'axonème des cils vibratiles).

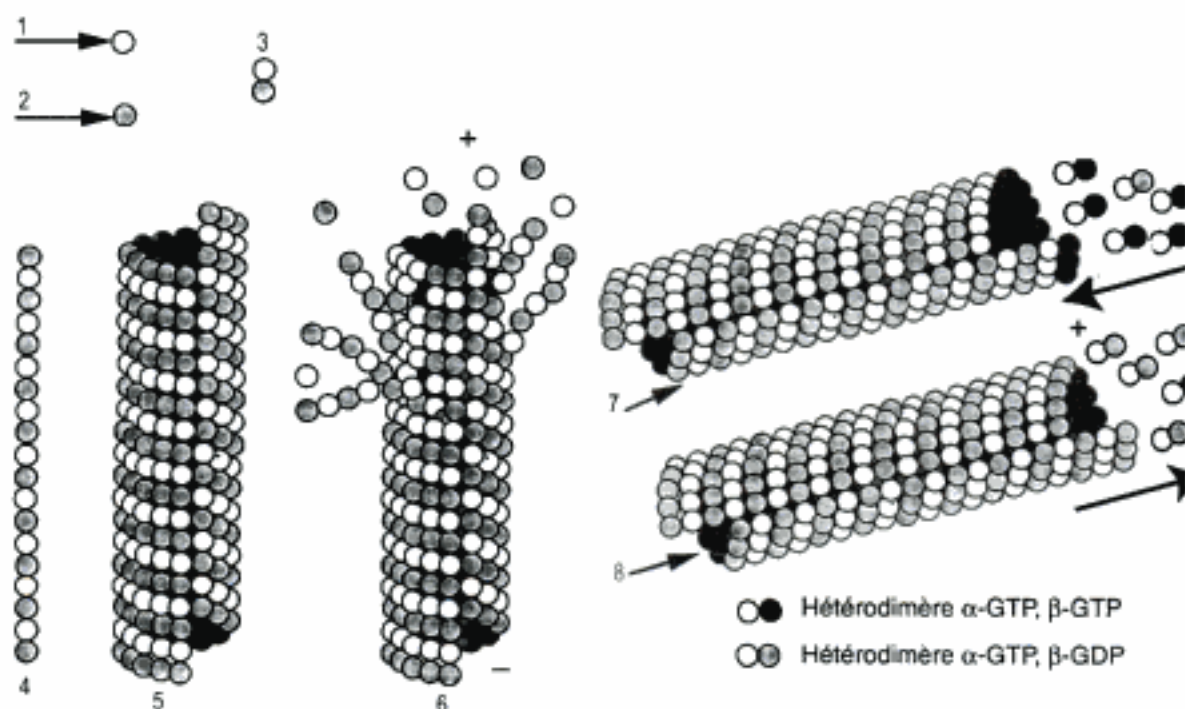


Fig. 9.32

Microtubule.

1. Tubuline α + GTP. 2. Tubuline β + GDP. 3. Hétérodimère de tubuline. 4. Protofilament. 5. Microtubule. 6. Dépolymérisation. 7. Croissance du microtubule. 8. Dépolymérisation.

Les hétérodimères sont formés par l'association d'une molécule de tubuline α liée à GTP et d'une molécule de tubuline β et reliée soit à GTP soit à GDP. Dans le corps du microtubule la quasi-totalité des molécules de tubuline α sont liées à GDP. La dépolymérisation (6) se fait par séparation préalable des protofilaments.

Au cours de la croissance du MT, qui se produit dans un milieu riche en dimères contenant la tubuline β liée à GTP, il se forme une coiffe stabilisatrice constituée par des dimères contenant la tubuline β liée à GTP. La baisse de la concentration locale en tubuline β liée à GTP entraîne la dissociation de la coiffe puis la dépolymérisation (8). La polymérisation se produit aux deux extrémités des MT (ce qui n'est pas montré dans ce schéma) ainsi que la dépolymérisation. La polymérisation est plus rapide à l'extrémité positive.

B. MT labiles

1. Définition

Les MT labiles sont des MT libres : ils subissent en permanence des alternances de polymérisation et de dépolymérisation. La labilité des MT dépend de GTP qui fournit l'énergie à la dépolymérisation des MT. Les MT

labiles ne résistent pas, après fixation par des aldéhydes, à une température inférieure à 4 °C.

2. Localisation

Dans les cellules eucaryotes (polarisées ou non), les MT labiles rayonnent à partir du centrosome en direction de la périphérie cellulaire : ils convergent depuis le cortex cellulaire vers l'appareil de Golgi qui occupe une position presque centrale. Ils constituent la manchette des spermatozoïdes. Ils sont présents dans les prolongements des cellules nerveuses (neurotubules).

Dans la cellule en mitose, ils forment les asters et ils se disposent en fuseau, le fuseau mitotique.

3. Caractères

Les MT labiles sont caractérisés par une *instabilité dynamique*. L'instabilité dynamique se définit par le comportement des MT qui subissent, en permanence et très rapidement, des phases de polymérisation et de dépolymérisation.

Une vingtaine d'heures séparent la synthèse des tubulines et leur dégradation enzymatique : comme la durée de vie d'un MT se limite à une dizaine de minutes, il paraît évident que chaque monomère de tubuline participe à la polymérisation et la dépolymérisation de nombreux MT.

C. MT stables

Les MT stables sont des MT qui résistent à tous les fixateurs, à des températures inférieures à 4 °C et qui appartiennent à des structures complexes durables comme les centrioles, les corpuscules basaux, l'axonème des cils et des flagelles (voir chapitre 19, p. 534).

D. Composition moléculaire

1. Hétérodimères de tubuline

Les hétérodimères α/β , d'un poids moléculaire de 110 à 120 kDa, et d'une longueur de 4 nm, existent dans presque toutes les cellules eucaryotes. Ils sont particulièrement stables et ne se dissocient pas dans la cellule dans des conditions physiologiques normales. Ces hétérodimères possèdent des sites de fixation de GTP. Les études cristallographiques indiquent que le *site de GTP* de la sous-unité α est situé profondément dans la molécule : il ne peut être échangé. C'est le *site-N non échangeable*. En revanche, le site de GTP de la sous-unité β permet une exposition de GTP favorable à un échange lent avec GDP. C'est le *site-E échangeable*.

2. Protofilaments

L'association linéaire des dimères de tubuline aboutit à la formation des protofilaments. Chaque protofilament représente un polymère de haut poids moléculaire.

3. Hétérogénéité des tubulines

L'existence, chez les mammifères, de *six formes de tubuline α* et de *tubuline β* , témoigne de l'hétérogénéité de cette molécule. L'*acétylation*,

la *détyrosination* et la *glutamylation* des tubulines des MT mûrs augmentent la diversité des molécules de tubuline.

L'hétérogénéité des MT s'accroît avec la *différenciation* : elle atteint son maximum dans les MT des neurones. La sous-unité α de l'hétérodimère de tubuline subit normalement un cycle de tyrosination et de détyrosination de l'extrémité carboxyterminale, grâce à l'action de la tubuline tyrosine carboxypeptidase. La sous-unité α peut perdre non seulement un *résidu tyrosine* mais aussi un deuxième résidu, l'*acide glutamique*. Cette tubuline (à laquelle il manque deux résidus), dénommée *tubuline A2*, qui ne peut plus être « retyrosinée » par la tubuline tyrosine ligase, existe en très grandes quantités dans les MT neuronaux stables (35 % de la tubuline), dans les MT stables des flagelles et des cils : elle représente l'étape finale de la maturation de la tubuline α . Cette *tubuline A2* existe dans les hétéropolymères de tubuline à longue durée de vie : c'est un *marqueur des MT stables*. En revanche dans d'autres cellules, comme les érythrocytes, l'hétérogénéité est très basse.

Des isoformes (désignées par δ , ϵ , ξ , η) découvertes récemment n'existent pas chez les végétaux et les champignons : en revanche, elles existent dans tous les organismes qui possèdent des centrioles ; ces isoformes interviendraient dans leur formation.

E. Structure des MT

Les MT, d'un diamètre externe uniforme de 25 nm, possèdent une paroi dense épaisse de 5 nm et une cavité axiale plus claire. *In vivo*, leur longueur atteint environ 20 μm : *in vitro*, elle est de 3 μm . La paroi comporte en moyenne 13 *protofilaments* de 5 nm de diamètre, parallèles à l'axe du tube, ayant la même polarité, associés latéralement les uns aux autres, constitués par une alternance d'hétérodimères de tubuline, tous orientés dans le même sens, les tubulines β étant toujours les plus proches de l'extrémité positive du MT.

L'organisation cylindrique des MT leur confère une *rigidité supérieure* à celle de filaments intermédiaires ou des microfilaments. En supposant que nous puissions agrandir un MT un million de fois, ce MT serait aussi résistant qu'un tuyau d'acier de 25 mm de diamètre, tout en conservant une flexibilité sur plusieurs mètres (soit quelques micromètres à l'échelle du MT). Un IF aurait la résistance d'un fil d'acier de 8 mm (Pollard).

F. Rapports des microtubules

Chaque microtubule possède une extrémité positive périphérique voisine de la membrane plasmique et une extrémité négative : cette dernière plonge dans le matériel péricentriolaire des centrosomes qui joue le rôle de centre organisateur des microtubules ou MTOC. Un des composants du MTOC, la *tubuline γ* , joue un rôle essentiel dans la nucléation des microtubules.

G. Mécanisme de formation des microtubules

1. Régulation de la synthèse des tubulines

Un mécanisme post-transcriptionnel agit sur la quantité des ARNm porteurs des informations nécessaires à la synthèse des tubulines : une augmenta-

tion de la synthèse des tubulines répond à une baisse de la concentration des monomères de tubuline dans le pool et vice versa. Pour la tubuline β , cette autorégulation implique la reconnaissance de 4 résidus aminés MREI (méthionine, arginine, acide glutamique, isoleucine) par la tubuline β elle-même, alors que ce tétrapeptide MREI émerge du ribosome en train de traduire l'ARNm. Si les monomères de tubuline sont abondants, l'interaction avec le tétrapeptide et avec le ribosome provoque la dégradation de l'ARNm. Si la concentration en monomères de tubuline diminue, le tétrapeptide reste libre et la traduction de l'ARNm se déroule normalement.

2. Repliement des molécules néosynthétisées de tubuline

Avant la nucléation, les tubulines doivent se replier. Une chaperonine cytoplasmique *TCP-1* (*Transfer Complex Polynucleotide 1* ; polynucléotide complexe de transfert 1), connue aussi sous le sigle *TriC* (*TCP-1 ring Complex* ; complexe en anneau de TCP-1), replie un grand nombre de protéines, dont l'actine et les trois tubulines.

3. Nucléation des microtubules

La nucléation des microtubules s'effectue à partir d'un complexe en anneau de tubuline γ (γ -TuRC [γ *Tubulin Ring Complex*]) dénommé *gammosome*. Ce complexe est constitué par des protéines dites *accessoires* dont on ignore la nature exacte. Ces protéines sont disposées en un anneau sur lequel repose un anneau de molécules de tubuline γ (fig. 19.7). γ -TuRC sert de matrice pour la nucléation des microtubules. La masse fibreuse péricentriolaire du centrosome contient une cinquantaine de copies du complexe γ -Turc ; chacune des ces copies porte le nom de *gammosome*.

L'inactivation de la tubuline γ provoque l'inhibition de la nucléation.

4. Polymérisation du MT néoformé

La polymérisation se produit à partir des hétérodimères α/β de tubuline, en présence de GTP et de Mg^{++} ; elle concerne les deux extrémités du MT. La *sous-unité* β de l'hétérodimère porte un *site d'échange de GTP*. La polymérisation des dimères de tubuline est un processus spontané qui se produit dès lors que la tubuline β est chargée de GTP.

Un dimère de tubuline α/β n'est incorporé dans un microtubule que si la tubuline du dimère entrant est associée à GTP. C'est pourquoi la *tubuline* β est souvent désignée par les termes de *tubuline-GTP*.

La *coiffe*, située à l'extrémité positive du MT, est formée par des molécules de tubuline-GTP. Cette coiffe de tubuline-GTP a une action stabilisatrice sur le microtubule : elle est favorable à la polymérisation. Mis à part la coiffe, l'ensemble du microtubule est constitué par des dimères dont la tubuline β est liée à GDP. Si la concentration de tubuline-GTP baisse et si celle de tubuline-GDP augmente, il se produit une *dépolymérisation*. La polymérisation dépend de la concentration locale des tubulines-GTP.

La *polymérisation de l'extrémité positive est plus rapide* que celle de l'*extrémité négative*, si bien que l'extrémité positive du MT s'allonge trois à quatre fois plus vite que l'extrémité négative. Si les vitesses de polymérisation et de dépolymérisation sont égales, la longueur du MT reste constante. En revanche, si la vitesse de polymérisation est supérieure à celle de dépolymérisation, le MT s'allonge.

5. Conditions de la dépolymérisation

L'hydrolyse du GTP en GDP par la tubuline β est nécessaire à la dépolymérisation et constitue le fondement de l'instabilité dynamique des MT.

La *conformation de la tubuline β* est modifiée après l'hydrolyse du GTP et les interactions entre tubuline β et tubuline α sont altérées, ainsi que les interactions des dimères entre eux. Dans les conditions de croissance rapide, la *coiffe de tubuline β -GTP* aux extrémités du MT suffit cependant à le stabiliser sur toute sa longueur. Si la coiffe disparaît (lors de l'épuisement local du pool de tubuline, par exemple) le MT, qui comporte de la tubuline β -GDP sur toute sa longueur, se déstabilise et est dépolymérisé.

6. Vitesse de polymérisation

Le nombre d'hétérodimères α/β contenus dans le pool conditionne la vitesse de polymérisation. Au début de la phase d'élongation, la vitesse de polymérisation, plus élevée que celle de dépolymérisation, permet l'allongement des MT. Au fur et à mesure que la quantité d'hétérodimères α/β décroît dans le pool, la vitesse d'élongation diminue jusqu'à ce qu'elle égale la vitesse de dissociation. Le pool a alors atteint la concentration critique de molécules de tubuline qui est égale à la quantité de molécules de tubulines libres.

La polymérisation des MT ne consomme pas toutes les molécules de tubuline libre : le plus souvent, 50 % de la quantité totale de tubulines de la cellule constituent les MT.

7. Inhibiteurs exogènes de la polymérisation

Les molécules de tubuline possèdent non seulement des sites de liaison pour le GTP mais aussi des sites pour les alcaloïdes inhibiteurs de la polymérisation. La fixation d'alcaloïdes (*colchicine*, *vincristine*, *vinblastine*, etc.) provoque un raccourcissement, puis une disparition des MT par défaut de polymérisation (c'est pour cette raison qu'elle inhibe la division cellulaire au stade de la métaphase). Ces molécules n'agissent que sur les MT labiles.

8. Stabilisateurs exogènes du microtubule

Le *taxol* favorise la polymérisation des MT, de telle sorte qu'il diminue considérablement la quantité de tubuline libre dans le pool. Ainsi, le taxol bloque la division cellulaire, car l'alternance de polymérisation et de dépolymérisation des MT ne peut plus se dérouler. L'étude stœchiométrique révèle qu'une molécule de taxol se fixe sur chacun des dimères de tubuline d'un MT. La liaison du taxol se fait sur le domaine aminoterminal de la tubuline β .

H. Protéines associées aux microtubules

1. Définition

Les MAP sont des protéines interagissant avec les MT, qui se classent en protéines *stabilisatrices*, protéines *déstabilisatrices*, protéines de *fragmentation*, protéines de *liaison* et protéines *motrices*.

2. MAP stabilisatrices

Le tissu nerveux, très riche en MT, est favorable à l'étude des MAP. Les recherches traditionnellement conduites sur le cerveau permettent d'étudier et de bien connaître deux familles de MAP, les *protéines HMW* (*High Molecular Weight* ; protéines de haut poids moléculaire) et Tau. Ces MAP structurales stabilisent les MT.

a. Protéines HMW

HMW, d'un PM compris entre 200 et 300 kDa, regroupe une dizaine de protéines : les MAP1 qui existent dans les péricaryons, les dendrites et les axones, et les MAP2 qui n'existent que dans les péricaryons et dans les dendrites. Les MAP établissent des connexions en forme de pont entre les MT et entre les IF. MAP4, la seule MAP ayant une distribution ubiquitaire, stabilise d'une manière sélective des sous-groupes de MT (fig. 9.33).

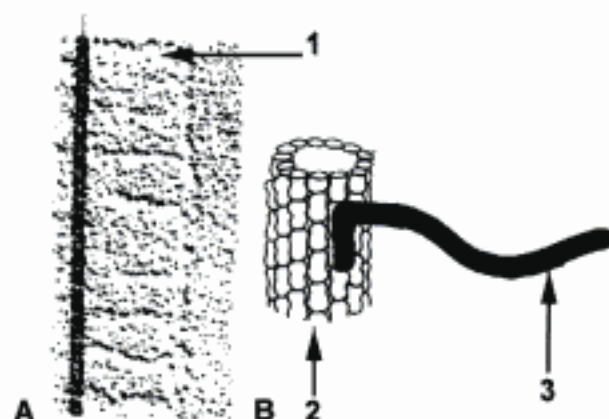
Fig. 9.33

Les MAP stabilisatrices.

A. Photomicrographie en MET montrant la disposition des MAP.

B. Reconstruction tridimensionnelle d'un MT et d'un bras constitué par plusieurs MAP.

1. Bras latéral. 2. Microtubule. 3. Bras latéral.



b. Protéines Tau

Les protéines *Tau* (70 kDa) n'existent que dans les neurones et principalement dans les axones. Elles sont utilisées comme marqueur. Elles accélèrent la polymérisation de la tubuline, stabilisent les MT en constituant des bras d'une longueur de 18 nm qui s'associent aux MT voisins. Elles protègent les MT contre le désassemblage, favorisent la formation de faisceaux de MT parallèles.

Les souris, ayant une mutation nulle pour Tau, restent viables, ce qui indique que la stabilisation des MT dépend alors d'autres MAP. Tau se localise principalement dans les axones, tandis que MAP2 reste dans le péricaryon et dans les dendrites. Les MT peuvent jouer un rôle dans la répartition de Tau, puisqu'ils distribuent, dans la cellule, l'ARNm responsable de sa synthèse.

Les protéines Tau sont hyperphosphorylées dans la maladie d'Alzheimer, ce qui provoque de nombreuses anomalies de l'organisation microtubulaire.

c. Sites de fixation des MAP

Les MAP se disposent sous la forme de bras latéraux régulièrement espacés. Les MAP possèdent une zone adhérent au MT, parallèle à celui-ci, et une zone horizontale, perpendiculaire au MT. Des modifications intéressant uniquement la tubuline α des MT (acétylation d'une lysine et

suppression d'une tyrosine de l'extrémité carboxyterminale) aboutiraient à la formation de sites de fixation pour les MAP.

3. Protéines MAP déstabilisatrices

a. Définition

Les MAP déstabilisatrices sont des protéines qui provoquent la dépolymérisation des microtubules.

b. Stathmine

La *stathmine* est une protéine constituée par une longue hélice alpha qui régule la polymérisation et la dépolymérisation des MT. Active, la stathmine agit comme une protéine de séquestration en se fixant latéralement sur deux hétérodimères de tubuline : les deux hétérodimères ne peuvent se fixer sur l'extrémité des microtubules. La stathmine diminue la quantité d'hétérodimères de tubuline utilisables pour la polymérisation. Elle provoque la dépolymérisation au cours de l'interphase et de la fin de la division cellulaire. Elle est inhibée par la phosphorylation. Cette inhibition accroît la vitesse d'élongation des microtubules.

c. MCAK

MCAK (*Mitotic Centromer-Associated Kinesin* ; kinésine mitotique associée au centromère) est une kinésine particulière qui agit comme un facteur de désassemblage des MT. MCAK possède un domaine moteur situé au milieu des chaînes polypeptidiques. Ce domaine moteur serait responsable de l'hydrolyse de l'ATP qui créerait une tension à l'extrémité positive des MT : cette tension provoquerait le désassemblage des MT.

4. Protéines MAP de fragmentation

La *katanine* est une protéine hétérodimérique de fragmentation qui tire son nom du mot japonais *katana* qui signifie épée du samouraï. Elle possède une *activité ATPasique*. Elle fait partie de la famille des ATPases de type AAA (*ATPases Associated with various cellular activities* ; ATPases associées à des activités cellulaires variées). Elle intervient au cours de la *mitose*. Pendant la mitose, les microtubules fusoriaux subissent d'importantes modifications : une polymérisation au niveau de leur extrémité positive qui est liée au kinétochore et une dépolymérisation à leur extrémité négative qui plonge dans le centrosome. Elle désassemble les MT à leur extrémité négative. Le *matériel péracentriolaire* ne contient de la katanine que lorsque les microtubules entourent le centre cellulaire. Ce sont les microtubules qui stimulent l'activité ATPasique de la katanine.

5. Protéines MAP de liaison

CLIP-170 lie le complexe formé par la dynéine (une protéine motrice) et la tubuline aux membranes et en particulier à celle des vésicules de sécrétion (voir « Transport des vésicules d'endocytose », p. 210).

La *géphyrine* est une protéine intrinsèque des neurones, liée au récepteur de la glycine, un neurotransmetteur inhibiteur qui, en se fixant sur les récepteurs postsynaptiques, ouvre les canaux Cl^- et K^+ et tend ainsi à inhiber le potentiel d'action. La géphyrine se lie à la tubuline et elle assure

le regroupement des récepteurs de glycine postsynaptiques dans la membrane des neurones.

MAST, au cours de la mitose, fixe l'extrémité positive des microtubules kinétochoriens au kinétochore et permet ainsi le transport des chromosomes vers chacun des pôles de la cellule. La protéine *MAST*, qui demeure associée à l'extrémité positive des MT au cours de la polymérisation, interviendrait également dans l'ajout de dimères à l'extrémité positive des MT.

6. MAP motrices

Des expériences réalisées sur les axones géants de calmar ont permis d'isoler deux protéines motrices : la *kinésine* et la *dynéine* (fig. 9.34).

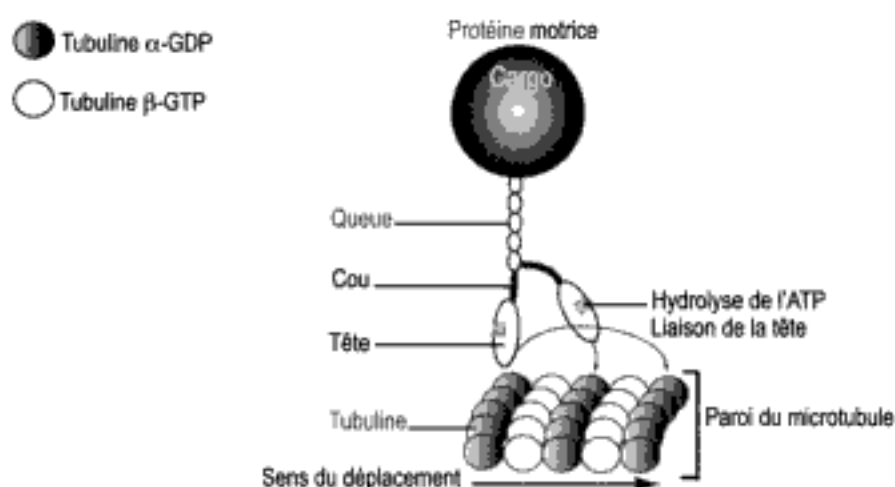


Fig. 9.34

Déplacement d'une molécule de kinésine sur un microtubule.

Kinésine et dynéine sont des ATPases qui utilisent l'énergie de l'ATP. Ces protéines existent également chez les vertébrés supérieurs. Elles interviennent dans des déplacements orientés. Le mécanisme de progression de ces molécules sur le MT est hypothétique.

La kinésine assure le transport d'organites, de grains de sécrétion en se déplaçant sur les MT en direction de l'extrémité positive. Elle possède un domaine moteur N-terminal constitué par deux têtes, un domaine central constitué par une longue chaîne α et une queue C-terminale qui s'attache à la structure transportée. La dynéine intervient dans le déplacement des vésicules et organites membranaires orienté vers l'extrémité négative des MT et vraisemblablement dans le déplacement des chromosomes durant la mitose.

La kinésine et la dynéine ont une structure très voisine. Ce sont des complexes composés de deux chaînes lourdes identiques et de plusieurs chaînes légères. Chaque chaîne lourde possède une région comportant une ou plusieurs têtes globulaires qui attachent la protéine aux MT. La kinésine et la dynéine cytoplasmiques sont des molécules à deux têtes (la molécule de dynéine ciliaire a trois têtes). L'extrémité globulaire de la kinésine, ou de la dynéine, se fixe sur les molécules de tubuline β . La kinésine et la dynéine se déplacent par saut d'une sous-unité β à la suivante. Les deux chaînes légères se lient aux organites ou à la membrane des vésicules.

I. Fonctions des microtubules

1. Déplacement des chromosomes

Les déplacements des chromosomes dépendent des MT du fuseau (voir chapitre 2, p. 31).

2. Intégrité de l'appareil de Golgi

Les MT assurent l'intégrité de l'appareil de Golgi (voir chapitre 17, p. 484).

3. Transport des vésicules d'endocytose

Les vacuoles de pinocytose ou les phagosomes, immédiatement après leur individualisation, se lient aux MT par l'intermédiaire de *CLIP170*, une protéine cytoplasmique de liaison (voir chapitre 3, p. 50) qui associe les vésicules aux MT. Les dynéines relaieront ensuite *CLIP170* et assureront le transport en direction de l'extrémité négative des MT. Les éléments transportés s'accumulent ainsi dans des régions voisines de l'appareil de Golgi et des lysosomes.

4. Transport axonal

Dans les cellules nerveuses, les synthèses protéiques et la biogenèse des organites se produisent dans le péricaryon. Les axones contiennent de très nombreux MT. La kinésine, en collaboration avec les MT, assure le transport des organites dans le sens antérograde (péricaryon → terminaison synaptique de l'axone) et la dynéine assure le transport rétrograde (extrémité de l'axone → péricaryon). Ces deux molécules interviennent aussi dans le transport des vacuoles et des organites dans tous les autres types cellulaires.

Les alcaloïdes qui dépolymérisent les MT interrompent les deux types de transport.

5. Mouvements du milieu extracellulaire

Les cils vibratiles, structures constituées par l'association de MT (voir chapitre 20, p. 550), sont responsables des mouvements de brassage du milieu extracellulaire. Ainsi, l'épithélium bronchique se caractérise par une bordure ciliaire dont les mouvements sont coordonnés (battement métrachrone). Les jonctions communicantes assurent la transmission de l'information qui coordonne ces mouvements. Le mouvement efficace se fait en direction de la partie supérieure des bronches et de la trachée.

6. Déplacement de diverses cellules

Les flagelles, qui possèdent une structure complexe, contiennent des MT qui jouent un rôle essentiel dans le déplacement des spermatozoïdes, des paramécies, etc.

7. Maintien de la forme des cellules différenciées

La destruction par l'abaissement de la température ambiante, l'augmentation de la pression hydrostatique, la colchicine, des MT des érythrocytes nucléés (cellules ovalaires) de certains vertébrés provoque une modifica-

tion de leur forme. Les érythrocytes deviennent sphériques. Il en est de même pour les cellules du cristallin (cellules très allongées). Les MT sont nécessaires au maintien de la forme des cellules puisque, après destruction, ces cellules deviennent sphériques.

Les expériences utilisant des *fibroblastes BHK21* (*Baby Hamster Kidney* ; rein de hamster nouveau-né) sont très démonstratives. Dans des conditions normales de culture, ces cellules sont allongées et possèdent quelques prolongements. L'inhibition de la formation des MT, obtenue par adjonction de colchicine au milieu de culture, modifie la forme des cellules qui prennent l'aspect des cellules épithéliales : elles deviennent polygonales.

8. Rôle dans la morphogenèse

Pendant la morphogenèse, les cellules acquièrent progressivement leur forme définitive. Le *cristallin*, par exemple, se différencie aux dépens de la *placode optique* qui est constituée par une seule couche de cellules cubiques. Les cellules de la placode s'allongent, deviennent prismatiques, puis la placode s'invagine en une vésicule, la vésicule cristallinienne. L'allongement des cellules est contemporain de la différenciation des MT : ils émanent d'un centrosome apical et s'allongent parallèlement au grand axe des cellules. La colchicine empêche la différenciation de la vésicule cristallinienne.

9. Rôle dans l'excrétion

La *colchicine* inhibe la libération des produits contenus dans les phagosomes des granulocytes, de l'histamine par les granulocytes et les macrophages, de l'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans. Le transport des vésicules au cours de l'exocytose dépend des molécules de *kinésine* qui se déplacent le long des MT. La *destruction* des MT *inhibe la migration* des molécules de kinésine. Le blocage de l'excrétion des granulocytes explique le mécanisme d'action de la colchicine dans la thérapeutique de la goutte. Cette maladie métabolique est caractérisée par l'accumulation d'urate dans les articulations. Les phagocytes situés dans l'articulation ingèrent des cristaux d'urate monosodique : la colchicine inhibe la décharge du contenu des lysosomes dans les vacuoles de phagocytose et celle des phagosomes dans l'articulation, qui produisent une réaction inflammatoire.

10. Maintien de la polarité cellulaire

La polarité cellulaire est à la fois structurale et fonctionnelle. Elle implique que certaines activités de la cellule sont localisées à l'un des pôles cellulaires. Elle est évidente dans les entérocytes dont une des faces est en rapport avec une cavité, une autre avec la lame basale, et les deux latérales avec les cellules voisines. La dépolymérisation des MT des entérocytes induit la dédifférenciation du plateau strié apical et l'apparition d'un plateau strié basal. Dans les fibroblastes en culture, la polarité cellulaire est indiquée par le pôle où s'effectuent les mouvements de la membrane ondulante (mouvements directionnels). La pinocytose est habituellement localisée dans cette région. Traités par la colchicine, les fibroblastes prennent une forme polygonale et les mouvements directionnels sont remplacés par des mouvements amiboïdes au hasard. La perte de cette

polarité inhibe le chimiotactisme des leucocytes : ce fait explique la diminution du nombre des phagocytes pénétrant dans les articulations des goutteux traités par la colchicine, et donc la diminution des réactions inflammatoires.

11. Maintien de la structure de la membrane plasmique

La phagocytose par les granulocytes se caractérise par la pénétration d'une partie de la membrane plasmique dans le cytoplasme. La membrane plasmique contient des sites spécifiques de transport des acides aminés. Dans les conditions normales, au cours de la phagocytose, ces sites sont respectés et restent tous dans la membrane plasmique, de telle sorte que la membrane du phagosome n'en contient pas. Après traitement par la *colchicine*, de grandes surfaces contenant des sites de transport d'acides aminés pénètrent dans la membrane qui limitera la vacuole de phagocytose. Ce fait implique donc que la répartition des sites dépendrait des MT. Un autre exemple confirme le rôle joué par les MT dans le maintien de la structure de la membrane. Les MT des lymphocytes, au cours de la *formation de la cape*, sont localisés sous la membrane plasmique, dans la région de la cape.

12. Rôle dans le transport dirigé des ARNm

Les MT et les MAP motrices interviennent dans le transport de RNP (ribonucléoprotéines) contenant des ARNm. Les ARNm se lient aux MT par l'intermédiaire d'une protéine MAP1A qui interagit en général avec la partie 3' non traduite de l'ARNm (3' UTR ; 3' *Untranslated Region*). Les ARNm, dont la traduction donne naissance à des protéines du cytosquelette, sont transportés par des MT jusqu'à leur lieu d'utilisation. Les protéines du cytosquelette ne sont donc pas transportées dans le cytoplasme et ne possèdent pas de séquence d'adressage.

Chez l'embryon de la drosophile, les ARNm du gène *bicoid* sont adressés à la partie antérieure de l'embryon (le gène *bicoid* contrôle la formation de la tête et du thorax). La dépolymérisation des MT provoque de graves anomalies de la partie antérieure de la drosophile.

POINTS CLÉS

- Les MF des cellules non musculaires sont instables. Ils entrent dans la constitution du cortex cellulaire. Des protéines ABP régulent la polymérisation, la dépolymérisation des MF, les stabilisent, inhibent la formation d'actomyosine, regroupent les MF en faisceaux, etc.
- Les MF s'associent à la myosine II dans les faisceaux contractiles qui s'ancrent sur la membrane plasmique au niveau des points de contact focal. Les MF peuvent aussi s'organiser en faisceaux serrés non contractiles (microvillosités) : ces faisceaux non contractiles interviennent cependant dans les mouvements des lamellipodes (dans les microvillosités c'est la myosine I qui organise les faisceaux, la myosine II participe à l'ancrage du faisceau).
- Les MF, en collaboration avec la myosine I, interviennent dans le déplacement d'organites et dans les mouvements de glissement des MF les uns par rapport aux autres. Les MF sont responsables de la viscosité du cytoplasme (gel avec la filamine, sol avec la gelsoline), des mouvements et de la forme de la cellule. L'actine joue un rôle fondamental dans la coordination d'un grand nombre de fonctions biologiques aussi diverses que la locomotion et la contractilité, le contrôle de la morphologie cellulaire, l'adhérence au substrat, l'agrégation plaquettaire (la coagulation), la cytokinèse, l'endocytose, l'établissement et le maintien de la polarité, l'expansion des pseudopodes, le guidage axonal, les invasions bactériennes entérocytaires, le rassemblement des récepteurs membranaires, l'endocytose, la fécondation et le développement embryonnaire (gastrulation, neurulation), l'organisation dynamique du cytosquelette.
- Dans les fibres musculaires squelettiques, les MF et la myosine II sont organisés en myofibrilles. La contraction musculaire est le résultat du glissement des MF par rapport aux myofilaments de myosine : les MF s'associent à la lame basale qui entoure chaque fibre musculaire striée par l'intermédiaire de la dystrophine M.
- Les IF sont des polymères stables qui se distribuent dans le cytoplasme (à sa périphérie et autour du noyau) et dans le noyau (lamines). Les IF cytoplasmiques regroupent des homopolymères (vimentine, desmine, GFA ou GFAP, périphérine) et des hétéropolymères (cytokératine, neurofilaments). Les IF de cytokératine (épithélium cutané) sont les plus résistants : ils s'ancrent sur les desmosomes.
- Les MT, polymères des hétérodimères de tubuline α/β qui existent dans tous les types cellulaires (sauf dans les hématies), se disposent autour des MTOC, leur extrémité négative plongeant dans la masse péricentriolaire. La synthèse des tubulines qui les constituent est contrôlée par un mécanisme de rétroaction. Les TCP-I replient les molécules de tubuline avant la nucléation qui précède la phase d'élongation. La polymérisation (nucléation et élongation) s'effectue en présence de Mg^{++} et de GTP.
- Le gammosome (complexe multimérique contenant de la tubuline γ) est indispensable à la polymérisation. La vitesse de polymérisation est proportionnelle à la quantité de tubuline libre. La colchicine, la vincristine, la vinblastine, le nocodazole inhibent la polymérisation et bloquent la mitose. Le taxol (utilisé en chimiothérapie de certains cancers), qui lui, en revanche, stabilise les MT, bloque également la mitose.
- Les MT interviennent dans les mouvements des chromosomes, l'intégrité de l'appareil de Golgi, le transport de substances ou de matériel intracellulaire, les mouvements du milieu extracellulaire, le déplacement et les mouvements des cellules, la morphogenèse, le maintien de la forme, de la structure et de la polarité cellulaire, la migration des vacuoles d'endocytose et des grains de sécrétion, le maintien de l'organisation de la membrane plasmique, le transport des ARNm.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. La molécule d'actine G

- ☐ A. N'existent que deux isoformes différentes : α et β .
- ☐ B. Possède un site de fixation pour le couple GDP/GTP.
- ☐ C. Possède un site de fixation pour le Na^+ .
- ☐ D. Est une protéine globulaire de 375 AA.
- ☐ E. Contient un AA rare : la 3-méthyl histidine.

2. La polymérisation de l'actine G en actine F

- ☐ A. Dépend de la concentration en Ca^{2+} , ATP actine F.
- ☐ B. Dépend de la concentration en Mg^{2+} ATP actine G.
- ☐ C. Dépend de la concentration en Ca^{2+} , GTP actine G.
- ☐ D. Se fait de façon identique aux deux extrémités du microfilament.
- ☐ E. La polarité des microfilaments est visible en microscopie électronique.

3. Les protéines de liaisons à l'actine

- ☐ A. La gelsoline provoque la formation d'un réseau tridimensionnel d'actine.
- ☐ B. La profiline favorise la polymérisation.
- ☐ C. La tropomyosine stabilise les microfilaments.
- ☐ D. La filamine associe les microfilaments à la membrane plasmique.
- ☐ E. La dystrophine associe les microfilaments aux organites cellulaires.

4. Les protéines de liaisons à l'actine

- ☐ A. La myosine I assure le déplacement des organites le long des microfilaments.
- ☐ B. L' α -actinine associe les microfilaments contractiles.
- ☐ C. La fimbrine associe les microfilaments contractiles.
- ☐ D. La villine associe les microfilaments non contractiles.
- ☐ E. La nucléatine favorise la formation des microfilaments.

5. Les filaments contractiles et les points focaux

- ☐ A. Ils permettent des interactions entre les microfilaments et la membrane plasmique.
- ☐ B. Les microfilaments sont directement associés aux intégrines.
- ☐ C. Les points focaux sont absents des cellules en migration.
- ☐ D. Les microfilaments des points focaux ont des polarités inversées.
- ☐ E. La spectrine participe aux points focaux.

6. Les microvillosités

- ☐ A. Les microfilaments d'actine ont des polarités inversées.
- ☐ B. Les microfilaments sont associés entre eux par de la villine.
- ☐ C. Les microfilaments sont associés entre eux par de l' α -actinine.
- ☐ D. Les microfilaments sont associés à la membrane plasmique.
- ☐ E. Les microfilaments sont stabilisés par de la tropomyosine.

7. Les muscles striés

- ☐ A. Les myofibrilles sont constituées de quatre types de microfilaments.
- ☐ B. Des myofibrilles sont composées de myosine II.
- ☐ C. La myosine II est composée de deux chaînes légères et de deux chaînes lourdes.
- ☐ D. Les microfilaments sont composés d'actine de tropomyosine et de troponine.
- ☐ E. La dystrophine accroche les microfilaments à la membrane.

8. Le sarcomère

- ☐ A. Le disque A est constitué des myofilaments de myosine et d'actine.
- ☐ B. La strie Z contient des filaments intermédiaires.
- ☐ C. Le disque I est dépourvu d'actine.
- ☐ D. La strie Z est au centre du disque A.
- ☐ E. La ligne M est au milieu du sarcomère.

9. La contraction musculaire

- ☐ A. Repose sur les glissements de microfilaments d'actine les uns le long des autres.
- ☐ B. Le Ca^{2+} se fixe sur la tropomyosine.
- ☐ C. C'est un changement de la conformation de la myosine II qui est responsable du glissement de microfilaments.
- ☐ D. La tête de myosine interagit avec la tropomyosine.
- ☐ E. La myosine II est une ATPase.

10. La tubuline

- ☐ A. Est une protéine globulaire de 120kDa.
- ☐ B. Il existe trois isoformes de tubuline.
- ☐ C. L'isoforme γ est spécialisée dans le processus de nucléation.
- ☐ D. Les sites de fixations du GTP sur l' α tubuline et la β tubuline sont identiques.
- ☐ E. Dans les protofilaments, la sous-unité β est du côté de l'extrémité +.

11. Les tubulines peuvent subir des modifications post traductionnelles du type

- ☐ A. Phosphorylation.
- ☐ B. Élimination d'acides aminés en position C-terminale.
- ☐ C. Élimination d'acides aminés en position N-terminale.
- ☐ D. Ajout d'acides aminés de type glutamate.
- ☐ E. Ajout d'acides aminés de type acide aspartique.

12. Les microtubules

- ☐ A. Sont constitués de 13 protofilaments de dimères $\alpha\beta$.
- ☐ B. Sont toujours instables.
- ☐ C. L'extrémité plus est localisée vers le centriole.
- ☐ D. Sont stabilisés par des MAP qui tapissent la lumière du microtubule.
- ☐ E. La polymérisation des microtubules est dépendante du Mg^{2+} .

13. Le rôle des microtubules

- ☐ A. Ils interviennent dans le transport de vésicules.
- ☐ B. Ils interviennent dans le transport des ribosomes.
- ☐ C. Les microtubules s'associent aux desmosomes.
- ☐ D. Ils interviennent dans la cytodierèse.
- ☐ E. Ils interviennent dans la sécrétion des neurotransmetteurs.

14. Les kinésines

- ☐ A. Sont des MAP de stabilisation.
- ☐ B. Permettent le déplacement des vésicules vers l'extrémité + des microtubules.
- ☐ C. Sont ATP-dépendantes.
- ☐ D. Fonctionnent en sens inverse des dynéines.
- ☐ E. Sont détruites par la colchicine.

15. Les filaments intermédiaires

- ☐ A. Peuvent être soit des homopolymères soit des hétéropolymères.
- ☐ B. Sont constitués de cinq protofilaments.
- ☐ C. Peuvent être constitués par des molécules provenant de différentes familles de filaments intermédiaires.
- ☐ D. Ne sont pas capables de s'associer aux microtubules.
- ☐ E. Seules les lamines sont capables de former un réseau tridimensionnel.

16. Les filaments intermédiaires

- ☐ A. Une fois formés, ils sont stables.
- ☐ B. Ils sont uniquement cytoplasmiques.
- ☐ C. La cytochalasine E est capable de les dissocier.
- ☐ D. Leur association est ATP-dépendante.
- ☐ E. Peuvent être associés aux desmosomes.

17. Les cytokératines

- ☐ A. La molécule de base est globulaire.
- ☐ B. Ne sont présentes que dans les épithéliums.
- ☐ C. Sont séparées en trois types : acides, neutres et basiques.
- ☐ D. Sont composées entièrement d'acides aminés hydrophiles.
- ☐ E. Sont les plus résistants des filaments intermédiaires.

18. Les IFAP

- ☐ A. Organisent le réseau de filaments intermédiaires dans les cellules.
- ☐ B. Associent les filaments intermédiaires à la membrane.
- ☐ C. Les plakines associent les filaments intermédiaires aux microfilaments.
- ☐ D. Certaines séquestrent les monomères de cytokératines.
- ☐ E. La fillagrine intervient dans la formation des faisceaux de filaments de cytokératine.

QROC

1. Donner les tailles respectives des différents réseaux cytosquelettiques.
2. Donner le principe du tapis roulant.
3. Expliquez le mode d'action de la cytochalasine D.
4. Pourquoi dit-on que l'actine est une ATPase lente ?
5. Qu'appelle-t-on la nucléation des microfilaments ? Expliquer le processus.
6. Comment peut-on visualiser la polarité des microfilaments d'actine en microscopie électronique ?
7. Comment se déplacent les organites le long des microfilaments ?
8. Comment distingue-t-on les faisceaux d'actines serrés et les faisceaux contractiles ?
9. Donner les principales étapes de la contraction musculaire.
10. Qu'appelle-t-on le processus de protrusion ?
11. Citer les différents types de protrusion.
12. Décrire le mode d'association des filaments intermédiaires.
13. Les neurones se caractérisent par la présence de familles de filaments intermédiaires différentes dans le temps, lesquelles ?
14. Qu'appelle-t-on un filament intermédiaire de type homopolymère ? Donner un exemple.
15. Quelle est la particularité biochimique de la tubuline A2 ?
16. Citer un marqueur des microtubules stables.
17. Qu'est-ce que le g-TuRC ?
18. Citer les principales familles de MAP stabilisatrices.
19. Pourquoi dit-on que la coiffe tubuline GTP est stabilisatrice ?
20. Donner le rôle du taxol.
21. Comment se déplace une vésicule le long d'un microtubule ?
22. Donner le pourcentage de tubuline libre dans une cellule.
23. Pourquoi les microtubules sont-ils si résistants ?
24. Pourquoi dit-on que la tubuline a un site non échangeable pour le GTP ?
25. Quelle est la fonction de la katanine ?

Pour les corrections, se reporter à la page 579

Le noyau

- I. Définition
- II. Structure
- III. Caractères généraux
- IV. La chromatine
- V. Les ARN
- VI. L'enveloppe nucléaire
- VII. Les échanges entre le noyau et le cytoplasme
- VIII. L'organisation du noyau
- IX. Le nucléole

En 1831, R. Brown découvre le noyau dans des cellules végétales. Ce compartiment cellulaire est ensuite retrouvé dans les cellules animales puis dans toutes les cellules eucaryotes. Pendant de très nombreuses années, le noyau est resté le mieux connu de tous les organites cellulaires. De nombreux travaux, en particulier les expériences de *mérotomie*, lui confèrent une réputation d'omnipotence légèrement modifiée par les recherches modernes qui font de la cellule un tout dont rien ne saurait être impunément retiré.

Le noyau est un compartiment isolé par une double membrane qui est une citerne du réticulum endoplasmique, interrompue par des zones de communication avec le cytoplasme, les pores. Le noyau contient non seulement l'essentiel de l'ADN cellulaire, ce qui lui donne un rôle particulièrement important, mais il est aussi le siège de transformations continues intéressant en particulier les ARN synthétisés.

Le passage des procaryotes aux eucaryotes est l'un des événements les plus importants de l'évolution. C'est à ce moment qu'apparaît le noyau qui joue un rôle de « commandement », spécifique des cellules eucaryotes. Il introduit une compartimentation telle, que la *transcription* de l'ADN en ARN, mais aussi la *réplication* ou *duplication* de l'ADN, se déroulent dans un lieu séparé, par l'enveloppe nucléaire, des sites de *traduction cytoplasmique*. L'un des ARN transcrits, après une rapide phase de maturation, joue le rôle de messenger (ARNm). Il traverse l'enveloppe nucléaire en passant par les pores sous la forme de ribonucléoprotéines (ARN associé à des protéines). La traduction ou synthèse des protéines s'effectue donc dans le cytoplasme (lecture de l'ARNm et synthèse des protéines par les ribosomes).

I. Définition

Le noyau est un compartiment cellulaire n'existant que chez les eucaryotes, présent dans toutes les cellules, à l'exception des *hématies*, des *kératinocytes* des couches superficielles de l'épiderme et des *thrombocytes* : il contient l'ADN sous la forme des chromosomes, un nucléole, un nucléoplasme et une matrice nucléaire. Il est le siège de la *réplication* de l'ADN, de la *transcription* de l'ADN en ARN et de la *maturation* de l'ARNm.

II. Structure

Le noyau contient (fig. 10.1) un *nucléoplasme* peu colorable, des amas d'une substance fortement chromophile, l'*hétérochromatine*, constituée par des fibres d'ADN superspiralisées, des *espaces interchromatiniens* peu colorables séparant les mottes d'hétérochromatine, dans lesquels circulent des filaments d'ADN très peu condensés, l'*euchromatine* et des corps sphériques, les *nucléoles*.

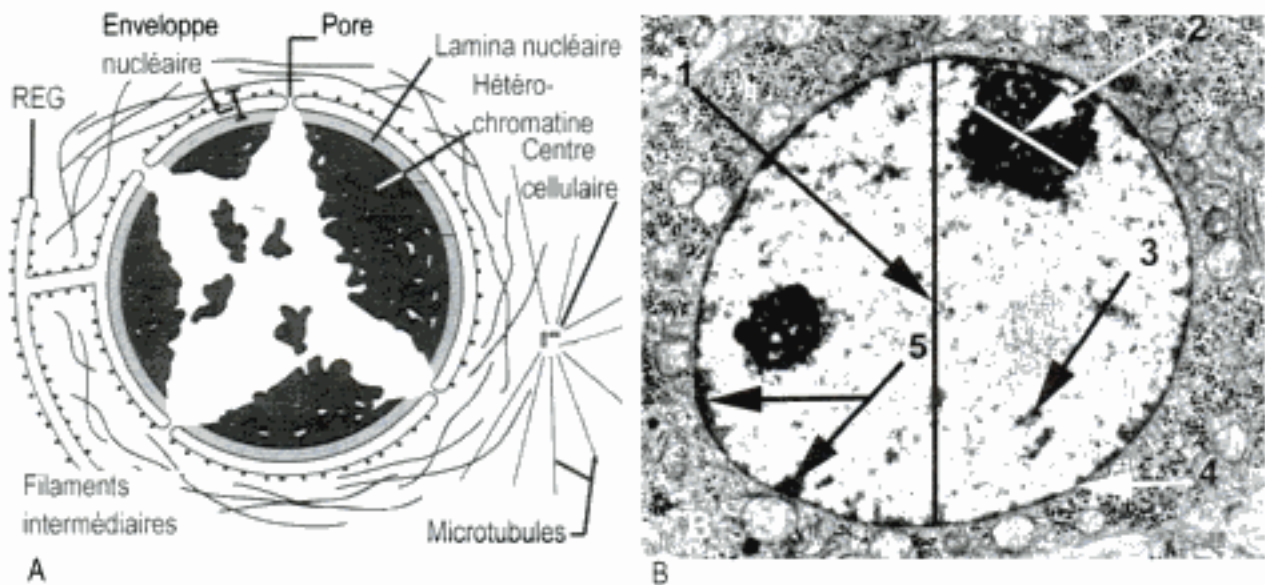


Fig. 10.1

Le noyau en microscopie électronique.

A. Représentation schématique du noyau, de ses rapports avec le RE et le cytosquelette.

B. 1. Noyau. 2. Nucléole. 3. Hétérochromatine. 4. Enveloppe nucléaire. 5. Chromatine marginale.

Le noyau est limité par l'*enveloppe nucléaire* formée par les deux membranes d'une citerne spécialisée du réticulum endoplasmique, séparées par un espace, l'*espace périnucléaire*. Cette membrane est interrompue par place, ménageant ainsi des *pores*, zones de communication entre le nucléoplasme et le cytoplasme. Une *matrice* maintient la structure nucléaire : elle comprend des molécules de *lamine* (filaments intermédiaires du cytosquelette nucléaire ou *nucléosquelette*) qui s'associent en une *lamina*, un assemblage de *protéines* fibrillaires. Les molécules de lamine sont disposées en un réseau accolé à la face interne de la membrane interne. La lamina entre en rapport, par sa face interne, avec une couche de substance dense, l'*hétérochromatine périphérique*, fortement colorable.

III. Caractères généraux

Les cellules possèdent habituellement un *seul noyau*. Cependant, certaines cellules peuvent posséder plus d'un noyau : dans le foie, les *hépatocytes*, souvent polyploïdes et en particulier tétraploïdes, ont souvent deux noyaux (15 % de l'ensemble des cellules hépatiques).

Enfin, des masses protoplasmiques plurinucléées, les *plasmodes* et les *syncytiums*, contiennent de très nombreux noyaux. Les *plasmodes* résultent de la multiplication nucléaire *sans cytodierèse*. Les *syncytiums* naissent de la *fusion* de plusieurs cellules en une masse commune : par exemple, les *ostéoclastes*, qui interviennent dans le remodelage des os, détiennent en moyenne une dizaine de noyaux. Ils proviennent de la fusion de plusieurs *précurseurs mononucléés* d'origine sanguine.

A. Variations de forme

La forme du noyau diffère en fonction de la morphologie et de l'activité de la cellule (fig. 10.2).

Elle peut être *sphérique* dans les cellules épithéliales cubiques ou polyédriques, *ovoïde* dans les cellules fusiformes (cellules musculaires lisses), *discoïde* dans les cellules pavimenteuses, *lobulée* ou convolutive dans les granulocytes et dans les cellules tumorales (ce qui augmente la surface d'échange avec le cytoplasme), *irrégulière* dans les mégacaryocytes.

La forme est liée à l'activité cellulaire : dans les cellules hyperactives, le noyau acquiert parfois un contour irrégulier.

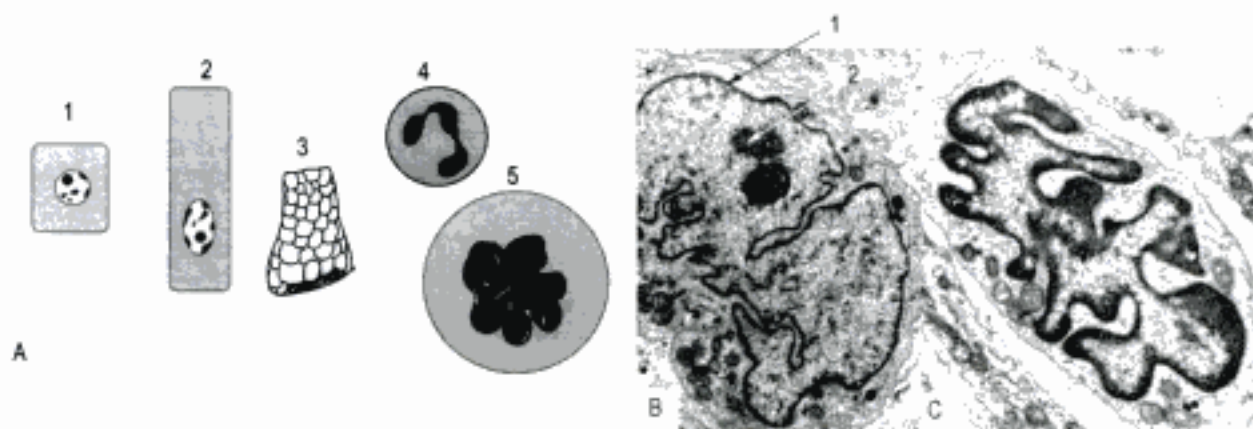


Fig. 10.2

Formes du noyau.

A. 1. Noyau sphérique d'une cellule cubique. 2. Noyau ovoïde d'une cellule prismatique. 3. Noyau discoïde d'une cellule muqueuse.

4. Noyau multilobulé d'un granulocyte (polynucléaire). 5. Noyau bourgeonnant d'un mégacaryocyte.

B. Noyau divisé en deux lobes par une profonde incisure. 1. Enveloppe nucléaire. 2. Chromatine marginale.

C. Noyau multilobé.

B. Variations de volume

Le volume nucléaire, remarquablement fixe pour le même type cellulaire, varie d'un type à l'autre. Les cellules muqueuses des glandes salivaires possèdent des noyaux de petites dimensions, tandis que les *cellules multipolaires* de la corne antérieure de la moelle ou les *cellules pyramidales* du cortex cérébral possèdent des noyaux particulièrement volumineux.

1. Rapport nucléoplasmatique (RNP)

C'est le rapport entre le volume nucléaire (V_n) et le volume cellulaire (V_c) dont le volume nucléaire est soustrait : il est constant pour une espèce donnée.

La cellule atteint le RNP spécifique de l'espèce au stade *blastula* : à partir de ce stade, le volume de l'embryon augmente par multiplication cellulaire et le RNP demeure identique pour chacune des nouvelles cellules.

2. Variation du RNP

Il varie en fonction

- du capital chromosomique : dans les *cellules tétraploïdes*, le RNP vaut le double de celui des *cellules diploïdes* avant la prophase ; il augmente car le volume nucléaire s'accroît en raison de la duplication de l'ADN au cours de la phase S du cycle cellulaire ;
- de la cellule. Dans les glandes endocrines, pendant la phase d'élaboration des hormones, le RNP augmente.

C. Variations de position

Le noyau occupe souvent le centre géométrique de la cellule, par exemple dans les cellules embryonnaires.

Sa position peut dépendre de l'importance des réserves élaborées ou des différenciations cellulaires. Il est *périphérique* dans les *adipocytes* de la graisse jaune, basal dans les cellules glandulaires à sécrétion exocrine. Dans les *cellules muqueuses*, il se dispose près de la membrane cellulaire basale. Dans les *cellules séreuses*, il occupe une région placée à l'union du tiers basal et du tiers moyen. Dans les cellules pancréatiques exocrines, le noyau est refoulé en direction du pôle basal par les grains de sécrétion apicaux, lorsque ceux-ci sont nombreux.

D. Cellules eucaryotes anucléées

1. Hématies

Les hématies se différencient, chez l'adulte, dans la moelle osseuse, à partir de cellules souches nucléées, les *érythroblastes*. Ces érythroblastes se transforment en normoblastes qui, avant leur passage dans le sang, perdent leurs organites par autophagie et expulsent leur noyau. Elles deviennent alors des réticulocytes, cellules sanguines qui conservent, dans leur cytoplasme, quelques débris basophiles. Dans le sang, les réticulocytes se transforment rapidement en érythrocytes.

2. Kératinocytes

Dans les *épithéliums malpighiens*, les kératinocytes superficiels de la couche cornée, qui proviennent de la différenciation de kératinocytes nucléés localisés dans la couche basale, sont des cellules anucléées : ces cellules, au cours de leur évolution, perdent aussi leurs organites par autophagie et se chargent de filaments de kératine.

3. Plaquettes sanguines

Les thrombocytes sont des cellules sanguines anucléées de 2 à 3 μm de diamètre, provenant de la fragmentation d'un *mégacaryocyte*, une cellule

géante polyploïde située dans la moelle osseuse hématogène. Les plaquettes sanguines circulent dans le sang (200 000 à 400 000/mm³), et interviennent au début de la coagulation sanguine en s'agrégeant. Elles obturent les lésions de la paroi vasculaire en s'agglomérant l'une à l'autre : c'est le *clou hémostatique d'Hayem*. Elles élaborent des *granules α* , qui contiennent de la *thromboglobuline*, du *fibrinogène*, de la *fibronectine*, de l'*accélélerine*, et des *granules β* qui contiennent de la *sérotonine* et de l'*ATP*.

IV. La chromatine

A. Définition

La chromatine est le matériel génétique nucléaire constitué par les fibres nucléosomiques formées par de l'ADN disposé en une double hélice et des protéines liées à l'ADN, les histones. En fonction du degré d'enroulement des *fibres nucléosomiques*, on distingue l'*hétérochromatine* qui est la forme condensée (fortement colorable) et l'*euchromatine*, qui est la forme déspiralisée (très faiblement colorable).

B. Structure en microscopie optique

L'examen, en microscopie optique, de noyaux fixés et traités par les colorants basiques, révèle l'existence d'une substance, dénommée chromatine en raison de sa forte affinité tinctoriale, actuellement désignée par le terme d'*hétérochromatine*. Les espaces moins denses, compris entre les masses chromatiques, renferment l'*euchromatine*.

Identique dans les noyaux appartenant au même type cellulaire, elle varie beaucoup d'un type cellulaire à un autre. La chromatine prend la forme de grosses mottes irrégulières, de mottes de petites dimensions, de granulations très fines ou pulvérulentes, enfin d'un réseau à mailles plus ou moins fines, dont certains points (en particulier les points de confluence) sont épaissis.

L'aspect varie non seulement avec la nature de la cellule à laquelle appartient le noyau, mais aussi avec son activité. La finesse de la chromatine exprime le degré d'activité de la cellule.

Dans les noyaux des cellules somatiques femelles, une masse de chromatine d'un diamètre de 1 μ m, biconvexe, se plaque soit contre le nucléole, soit contre l'enveloppe nucléaire : c'est la chromatine sexuelle, décrite sous le nom de corpuscule de Barr, qui correspond à la portion du chromosome X inactivée (voir « Hétérochromatine facultative », p. 227).

C. Fibres nucléosomiques (fibres chromatiniennes)

L'étude de la *chromatine en microscopie électronique*, après coloration négative, révèle qu'elle est constituée par des « fibres » formées par des alignements linéaires de sphères de 10 nm de diamètre réunis par un mince filament. Ces fibres portent le nom de fibres nucléosomiques (fig. 10.3). La diffraction des rayons X montre que l'ADN est localisé à la périphérie de ces sphères. Chaque sphère et l'ADN qui les entoure constituent un nucléosome.

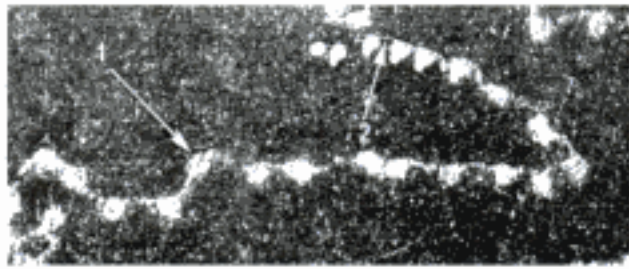


Fig. 10.3

Fibre nucléosomique (MET et coloration négative).

1. Nucléosome. 2. ADN.

1. Structure

Une fibre nucléosomique est constituée par une *molécule d'ADN double brin* de 2 nm de diamètre et par une succession de *particules cylindriques* et *plates* (noyau protéique nucléosomique ou cœur protéique contenant des protéines histones). Chaque particule a 10 nm de diamètre et 5,5 nm d'épaisseur (fig. 10.4). Autour de chaque particule cylindrique, la molécule d'ADN s'enroule en hélice d'un tour trois-quarts, soit environ 166 paires de bases (pb) : mais elle n'est liée aux histones que sur une longueur de 146 paires de bases complémentaires. Le segment d'ADN (*ADN linker*) qui relie les nucléosomes les uns aux autres a une longueur variable, (en moyenne une soixantaine de bases). Le *cœur protéique* et l'*ADN* qui l'entoure constituent le *nucléosome*.

2. Histones

Les histones constituent le cœur protéique ou core nucléosomique (fig. 10.4) : il est formé par des histones H2A, H2B, H3, H4 (PM compris entre 11 300 et 15 300 kDa) organisées en un octamère (quatre paires, une paire par type d'histone). Les histones sont des *protéines basiques* simples (22 kDa) riches en lysine et en arginine qui jouent un rôle majeur dans la *compaction* de l'ADN.

Le centre du cœur protéique est occupé par les régions *très hydrophobes*, non chargées, des histones, ce qui est favorable à leur regroupement : ce domaine globulaire hydrophobe très conservé (domaine histone-fold) est formé par trois hélices α . De part et d'autre de ce domaine, les extrémités N et C-terminales émergent à la surface du nucléosome (chaînes émergentes). Ces régions basiques forment des queues flexibles ou chaînes émergentes (fig. 10.4).

Une *histone H1 extra-nucléosomique* (21 000 kDa), beaucoup plus volumineuse que les autres histones, est située immédiatement en dehors du cœur protéique : elle contrôle le degré d'enroulement ou de condensation de la fibre nucléosomique (fig. 10.5).

3. Rôle des chaînes émergentes

Les chaînes émergentes sont constituées par des acides aminés chargés positivement : un résidu sur quatre est soit la lysine, soit l'arginine. Ces résidus interagissent avec les phosphates (chargés négativement) de l'ADN : ces liaisons ioniques maintiennent l'ADN contre le cœur protéique. Ces chaînes subissent des modifications post-traductionnelles (méthylation, ubiquitinylation, acétylation, phosphorylation). Ces modifications créent des *variants d'histones* (appelés aussi *histones de remplacement*) qui apportent une *information épigénétique* (« épigénétique » qualifie

■ Le nombre de paires de bases (pb) liées aux histones a été obtenu en soumettant des fibres nucléosomiques à une succession de clivages par les nucléases, jusqu'à l'obtention d'une particule insensible à l'action de cette enzyme. Cette particule contient le cœur protéique et l'ADN lié à ce cœur. L'analyse de cet ADN a montré qu'il contenait 146 pb.

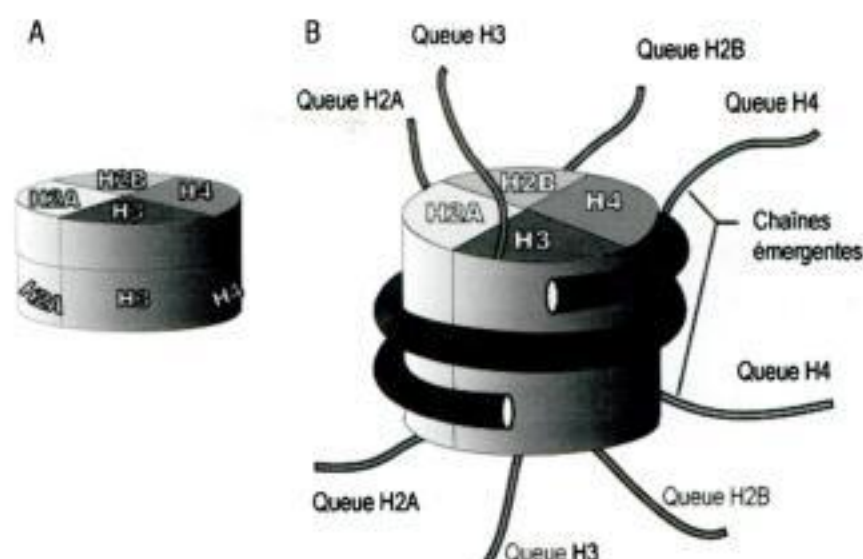


Fig. 10.4

Nucléosome.

A. Core nucléosomique : les histones H2A, H2B, H3, H4 sont organisées en octamère.

B. Les fibres émergentes ou queue.

des paramètres, héréditaires au cours des divisions cellulaires, qui contribuent à la régulation d'états fonctionnels cellulaires sans modifier les séquences de l'ADN). Les modifications des histones transforment la structure de la chromatine et contrôlent les fonctions cellulaires qui dépendent de l'ADN. Ces modifications constituent un code, le « code histone » : en effet, à chaque combinaison de modifications correspond un état particulier de la chromatine. Les variants d'histones transforment l'information codée.

D'une longueur totale variable, les fibres nucléosomiques dessinent des trajets complexes, sinueux. Elles décrivent des spires à enroulement serré dans l'hétérochromatine et sont déroulées dans l'euchromatine.

■ Les nucléases sont des phosphodiesterases catalysant l'hydrolyse des liaisons phosphodiester des acides nucléiques (ADNase ou ARNase) qui provoquent une coupure de ces molécules. On regroupe sous le terme de nucléases les ribonucléases, les désoxyribonucléases, les endonucléases et les exonucléases.

Le conditionnement de l'ADN en fibres chromatinienne compactes diminue le volume nucléaire nécessaire pour contenir les longues molécules d'ADN : il permet aussi de limiter et de contrôler l'accès à l'information génétique. La chromatine se répartit dans l'ensemble du nucléoplasme, à la périphérie du noyau, contre l'enveloppe nucléaire où elle constitue la membrane chromatique, et au voisinage du nucléole où elle constitue une ou plusieurs masses juxta ou paranucléolaires.

■ Le nucléosome pour certains auteurs est formé par le noyau nucléosomique (ou nucléosome) et le lien internucléosomique.

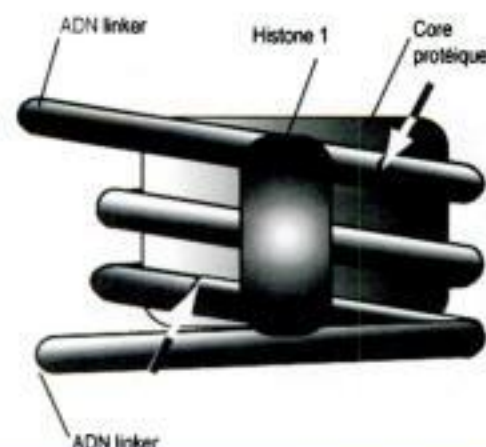


Fig. 10.5

L'histone H1.

Le core du nucléosome a une forme de cylindre légèrement aplati. Il contient les histones H2A, H2B, H3 et H4. L'histone H1 contrôle le degré d'enroulement du filament d'ADN. Les flèches indiquent les limites de la région d'ADN adhérant au cœur protéique.

4. Signification des fibres nucléosomiques

L'ensemble des fibres nucléosomiques spiralées ou dés spiralées, en fonction de leur état fonctionnel, représente, dans l'espèce humaine, les 23 paires de chromosomes (22 paires d'autosomes et une paire de gonosomes ou chromosomes sexuels : XX chez la femme, XY chez l'homme).

Chaque fibre nucléosomique possède les mêmes régions spécialisées qui sont :

- les *origines de la réplication* : la réplication ne peut se produire que si la molécule possède une séquence nucléotidique particulière, qui indique le point de départ de la réplication : il n'y a pas de nucléosomes dans ces régions. Étant donné la longueur de la molécule d'ADN de chaque chromosome, il existe plusieurs origines de la réplication, afin que la duplication se déroule plus rapidement ;
- le centromère, qui assure l'association des deux chromatides (deux fibres nucléosomiques) depuis la fin de la duplication jusqu'au début de l'anaphase, moment où se séparent les chromatides sœurs. Pendant la mitose, le centromère s'attache au fuseau par l'intermédiaire d'un complexe protéique, le kinétochore ;
- les *deux télomères*, régions spécialisées situées à chacune des extrémités d'un chromosome, qui contiennent des séquences spécifiques, les séquences télomériques : il a été récemment démontré que l'extrémité des fibres nucléosomiques est monocaténaire. C'est par ces extrémités que les molécules d'ADN s'ancrent dans la lamina.

5. Localisation des nucléosomes

Dans les fibres nucléosomiques contenant des milliers de nucléosomes, les emplacements des nucléosomes n'occupent pas les mêmes sites. La localisation des nucléosomes ne dépend pas de séquences particulières de l'ADN : elle est déterminée par les régions de l'ADN les plus flexibles, c'est-à-dire les plus riches en adénine et en thymine ; les nucléosomes se constituent dans les régions les plus favorables. Les régions moins flexibles, qui sont riches en guanine et en cytosine, sont appliquées contre la périphérie du noyau protéique.

Pour certaines molécules d'ADN, dans les mêmes conditions physiologiques, les nucléosomes occupent, sur une molécule donnée d'ADN, le même lieu. Ce positionnement précis est démontré par l'étude du gène de l'ARN 5 S qui possède un seul nucléosome. Un ADN_r (ADN ribosomal) 5 S dépourvu de nucléosome est ajouté, *in vitro*, à une solution contenant les quatre histones nucléosomiques : le nucléosome se fixe sur le même emplacement que le nucléosome *in vivo*.

6. Sites dépourvus de nucléosomes

Les fibres nucléosomiques possèdent des régions dépourvues de nucléosomes sur des longueurs atteignant plusieurs centaines de nucléotides. Cette absence régionale de nucléosomes dépendrait de la liaison de protéines non histones. Ces régions sont très sensibles à l'action d'une désoxyribonucléase (les désoxyribonucléases forment une famille d'enzymes nucléaires ou endonucléases, qui hydrolysent les molécules d'ADN). Par exemple, la Dnase I, extraite du pancréas, coupe l'ADN

simple ou double brin après une base pyrimidique. Ces sites sont occupés par les origines de réplication des gènes.

7. Les divers niveaux de spiralisation

Lorsque les nucléosomes sont distants les uns des autres, la fibre chromatinienne a un diamètre de 10 nm (fig. 10.6). Chaque noyau, d'une dizaine de microns de diamètre en moyenne, contient 1 m d'ADN sous la forme de fibres nucléosomiques. Le noyau ne peut contenir ces longs filaments que s'ils sont enroulés. Cet enroulement permet non seulement de réduire l'encombrement dû à une telle longueur, mais il permet aussi de contrôler les gènes en modifiant leur accessibilité aux facteurs de transcription.

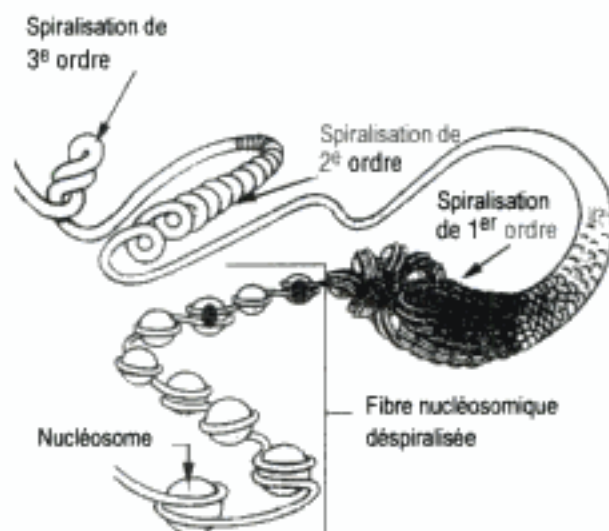


Fig. 10.6

Fibre nucléosomique et degré de spiralisation.

Le premier niveau de spiralisation est l'enroulement de l'ADN autour du cœur protéique du nucléosome : l'ADN de la fibre nucléosomique serait sept fois plus long s'il ne possédait pas de nucléosome. Le deuxième niveau de spiralisation (désigné cependant par les termes de *spiratisation de 1^{er} ordre*) dépend de l'histone H1 qui impose à la fibre nucléosomique un « empilement des nucléosomes ». Dans cette forme condensée, la fibre a un diamètre de 30 nm : sans ce deuxième enroulement, la fibre constituée par l'ADN serait alors 40 fois plus longue. Cette forme peut se spiraler : la fibre nucléosomique s'enroule en *solénoïdes* rendus solidaires par les *histones H1*. H1 est alors située sur la face interne du solénoïde. À des niveaux de compactage plus élevés, le diamètre de la fibre nucléosomique est alors de 100 et 300 nm : ces fibres sont désignées par les termes de *fibres chironèmes*. Le compactage des fibres nucléosomiques, qui est observé dans les chromosomes juste avant la division cellulaire, réduit la longueur par un coefficient de 7 000.

8. Euchromatine

a. Définition

L'euchromatine est la partie du génome contenu dans le noyau, représentée par la chromatine fonctionnelle décondensée constituée par des

fibres nucléosomiques dont l'ADN est très accessible aux facteurs de transcription. Elle regroupe les molécules d'ADN en cours de *réplication* ou de *transcription*. Elle représente 10 % de la chromatine totale.

b. Modification de structure des nucléosomes

Les nucléosomes créent un *environnement défavorable* à la réplication de l'ADN et à la transcription des gènes : les facteurs de régulation se lient 100 000 fois plus facilement à une molécule d'ADN nu qu'à une fibre nucléosomique.

La *transcription*, la *réplication* de l'ADN des fibres nucléosomiques dés spiralées n'est possible que si l'ADN, enroulé autour du cœur protéique, peut se libérer temporairement des histones : il faut donc que la structure du nucléosome soit modifiée. Plusieurs facteurs interviennent dans cette décompaction localisée au nucléosome. La *fixation d'un radical acétyle* sur la lysine 8 de l'extrémité C-terminale de l'histone H3 et de la lysine 16 de l'extrémité C-terminale de l'histone H4 modifie la charge de ces résidus et libère un peu l'ADN par rapport à chacune des histones. Cependant, cette acétylation ne semble pas suffisante : des complexes protéiques utilisent l'énergie produite par l'hydrolyse de l'ATP pour modifier la structure du nucléosome et permettre aux facteurs de transcription d'avoir accès à l'ADN.

Par exemple, des *protéines HMG 14 et 17 (High-Mobility Group ; groupe de haute mobilité)* interviendraient afin de rendre plus lâches les liens entre les histones et l'ADN. L'ADN se débobine donc partiellement de l'octamère d'histones sans se libérer complètement. 1 à 5 % de l'ARN synthétisé donne de l'ARNm, 15 % de l'ARNt (de transfert) et 80 % de l'ARNr (ribosomal).

La fixation d'un *complexe de remodelage* modifie la structure du nucléosome avant la transcription ou la réplication en provoquant un désassemblage partiel du core. Les complexes de remodelage de la chromatine sont de gros complexes protéiques d'une dizaine de sous-unités. Ils permettent l'accès à l'ADN du nucléosome. D'autres complexes sont responsables de la reconstitution correcte des nucléosomes après la transcription, la réplication ou la réparation de l'ADN. L'activité de ces complexes est contrôlée par la cellule. Par exemple, pendant la mitose, une phosphorylation inactive certains complexes de remodelage de la chromatine afin que les chromosomes mitotiques puissent conserver leur structure condensée.

9. Hétérochromatine

a. Définition

L'hétérochromatine est l'ensemble des segments de fibres nucléosomiques qui restent condensés pendant l'interphase : ces segments sont donc des fractions d'ADN dites inactives, car non transcrites. Elle a la superstructure solénoïde. Elle existe sous deux formes : la forme constitutive et la forme facultative.

b. Hétérochromatine constitutive

Elle ne contient aucune structure génique. Elle est constituée par un ADN de type répétitif (une séquence plus ou moins longue de nucléo-

tides est répétée un grand nombre de fois) qui n'est jamais transcrit. Elle constitue les centromères (ADN satellite des centromères) de toutes les cellules et les télomères (extrémités des chromosomes). Cette hétérochromatine constitutive est répliquée tardivement en fin de phase S. Elle jouerait un rôle de protection de certaines régions du génome par un effet de masse. La perte ou la destruction des segments hétérochromatiques centromériques condamne le chromosome à disparaître car, au moment de la mitose, il ne peut plus être transmis équitablement aux cellules filles. La perte des segments hétérochromatiques télomériques évolue vers la dégradation du chromosome.

c. Hétérochromatine facultative

L'hétérochromatine facultative traduit une inactivation, complète et entière mais temporaire, des gènes d'un segment chromosomique ou d'un chromosome entier sans altération des gènes réprimés. Ils pourront retrouver leur activité ultérieurement. Les gènes réprimés diffèrent d'un type cellulaire à un autre : ce ne sont donc pas les mêmes gènes qui s'expriment d'un type cellulaire à un autre.

La quantité d'hétérochromatine varie selon l'activité transcriptionnelle de la cellule. Un tel mécanisme explique la différenciation cellulaire. Par exemple, les gènes de la cytokératine sont réprimés dans les fibroblastes, ceux de la vimentine sont réprimés dans les kératinocytes. Le corpuscule de Barr des cellules de mammifères est un exemple classique d'hétérochromatine facultative. Ce corpuscule a la forme d'une pastille biconvexe de 1 µm de diamètre située à la périphérie du noyau, au voisinage de l'enveloppe nucléaire. Les femelles possèdent deux chromosomes X et les mâles un chromosome X et un chromosome Y. Malgré cette différence, les cellules femelles et mâles contiennent la même quantité de protéines codées par le chromosome X. Un mécanisme de compensation, chez la femelle, inactive l'un des deux chromosomes X. Avant l'implantation, chacune des cellules d'un embryon femelle contient un chromosome X (sélectionné au hasard) inactivé. Ce chromosome inactivé exprime un ARN (15 000 bases) : cet ARN, dénommé XIST, enveloppe le chromosome X et ne code pas de protéine.

Un des modes de répression génique est la condensation des fibres nucléosomiques dans l'hétérochromatine, qui rend les régions régulatrices inaccessibles aux facteurs de transcription. Un gène, correctement exprimé dans l'euchromatine, transféré dans l'hétérochromatine cesse d'être exprimé et est dit « réprimé ». Cette différence dans l'expression des gènes est décrite par les termes d'effets de position (les changements de localisation d'un gène produisent aussi des modifications du phénotype sans modification quantitative du génotype). L'expression d'un gène est donc influencée par sa localisation dans le génome.

L'inaccessibilité d'un gène n'est pas le seul mécanisme responsable de sa répression. La méthylation de l'ADN inactive sa transcription. Les régions promotrices des gènes peuvent contenir des îlots CpG (cytosine phosphate guanine). Une enzyme, l'ADN méthyltransférase, transfère un méthyle sur la cytosine des sites de liaison de l'ADN aux facteurs de transcription (TF) : cette méthylation bloque la liaison de TF et inactive le gène. La protéine 1 de l'hétérochromatine (HP1) intervient dans la répression de la transcription par l'hétérochromatine. HP1 intervient sur l'hétérochromatine

matine dont les nucléosomes contiennent l'histone H3 méthylée au niveau de la lysine 9 : HP1 se fixe sur ces nucléosomes par l'intermédiaire de chromo (*chromatin modification organizer*), un domaine organisateur et de modification de la chromatine. Cette inactivation de la transcription de l'hétérochromatine peut durer pendant de nombreux cycles cellulaires. C'est vraisemblablement ainsi que des cellules peuvent maintenir leur différenciation.

POINTS CLÉS

- La chromatine est constituée par des fibres nucléosomiques dont le degré de spiralisation est variable (fibres hyperspiralisées dans l'hétérochromatine, déspiralisées dans l'euchromatine).
- Dans l'euchromatine, les régions régulatrices sont accessibles facilement : elles sont situées dans des régions dépourvues de nucléosomes. En revanche, le promoteur, lorsqu'il est au contact d'un nucléosome, ne peut s'associer aux complexes TF d'initiation de la transcription et à l'ARN polymérase.
- Les facteurs de transcription qui interagissent avec les régions régulatrices libèrent le promoteur du nucléosome.

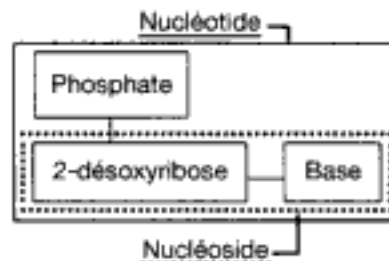
D. L'ADN nucléaire

L'ADN nucléaire contient le patrimoine génétique.

L'ADN est une macromolécule parfois très longue, un polymère de désoxynucléotides, constituée de deux chaînes hélicoïdales antiparallèles, indispensable à la vie cellulaire, puisqu'elle contient les informations (transmises de génération en génération) nécessaires à la synthèse des protéines structurales et enzymatiques.

1. Les nucléotides, monomères de l'ADN

Les *mononucléotides*, monomères de l'ADN, sont des *désoxyribonucléotides* (ou désoxynucléotides) : ces esters phosphoriques d'un *désoxyribonucléoside* sont formés par la combinaison, en quantité équimoléculaire, du *phosphate*, d'un pentose (le 2-désoxy-D-ribose) et d'une base azotée à noyau cyclique purique (adénine, guanine) ou pyrimidique (cytosine, thymine) désignée par une des lettres A, G, C, T.



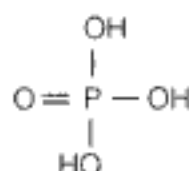
2. Structure de base

Les *nucléosides* sont formés par la combinaison du 2-désoxy-D-ribose avec une base purique ou pyrimidique. Les quatre nucléosides de l'ADN sont l'adénosine, la thymidine, la cytidine et la guanosine.

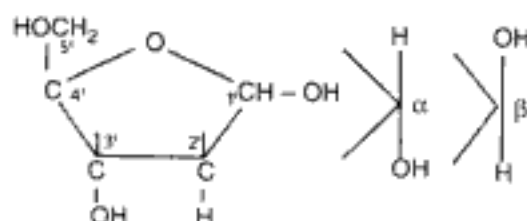
Un mononucléotide de l'ADN est formé par l'union d'un nucléoside et d'un phosphate.

3. Constituants

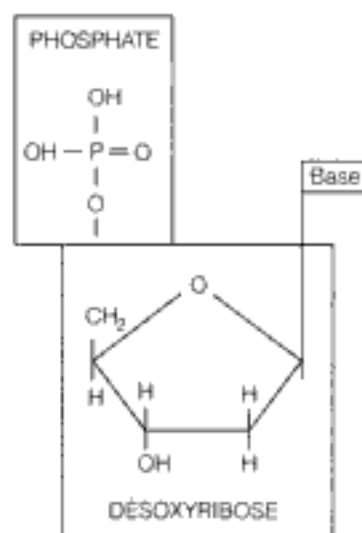
L'acide orthophosphorique HPO_4 a trois fonctions acides :



Le 2-désoxy-D-ribose répond à la formule :



Ces désoxyribonucléotides répondent tous à la formule générale :



Quatre désoxyribonucléotides, l'acide adénylique, thymidylique, cytidylique et guanylique sont la base de la molécule d'ADN.

4. Structure primaire de la molécule d'ADN

Chaque brin d'ADN (chaîne ou molécule monocaténaire) est formé par l'association de désoxyribonucléotides unis les uns aux autres par des liaisons entre le phosphate et le désoxyribose de chacun des deux nucléotides voisins. Cette liaison phosphate réunit le carbone 3' d'un désoxyribose au carbone 5' d'un désoxyribose adjacent (liaison 3'-5' phosphodiester).

Une base purique, ou pyrimidique, se fixe latéralement sur le carbone 1 de chaque désoxyribose. Le nombre de désoxyribonucléotides peut atteindre 10^4 à 10^5 pour un brin.

La molécule d'ADN est une molécule bicaténaire constituée par l'association de deux brins : ces brins sont unis l'un à l'autre par l'intermédiaire de liaisons hydrogènes associant les bases puriques et pyrimidiques de chacune des deux chaînes. L'appariement entre les bases est exclusif. Cette exclusivité de l'appariement est la conséquence de la forme des

molécules, qui doit être complémentaire (complémentarité stérique) pour qu'il y ait association. L'adénine a une forme complémentaire de celle de la thymine, la cytosine a une forme complémentaire de celle de la guanine ($A=T$, $C=G$).

Une molécule d'ADN, dont chacun des brins serait rectiligne, aurait la forme d'une échelle dont les montants sont faits par la succession $3'$ sucre $5' PO_4$ $3'$ sucre $5' PO_4$ $3'$ sucre $5'$ et les barreaux par l'union sucre-base-base-sucre.

5. Structure tridimensionnelle de la molécule d'ADN

La molécule d'ADN est formée de deux brins hélicoïdaux *antiparallèles*, enroulés autour d'un axe commun : c'est une double hélice (fig. 10.7).

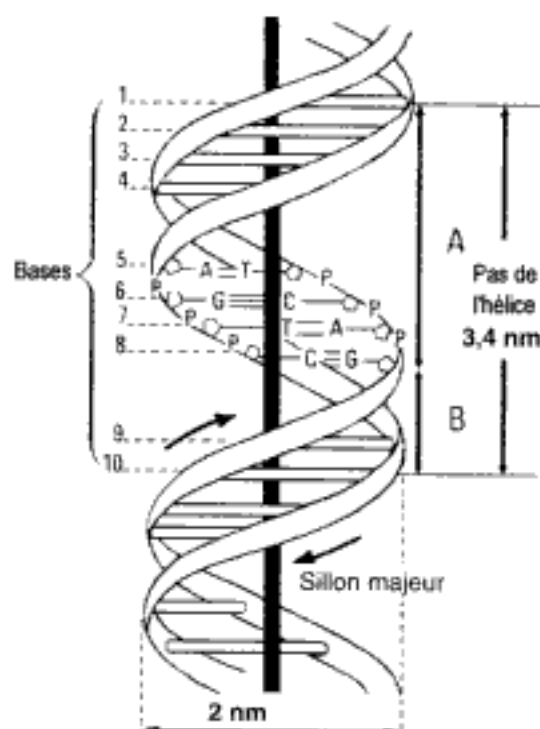


Fig. 10.7

Structure tertiaire de l'ADN.

Les brins sont disposés en une double hélice qui présente deux sillons en spirales, l'un d'une largeur de 2,2 nm (A - sillon majeur), l'autre de 1,2 nm (B - sillon mineur).

Le pas de cette double hélice, d'une longueur de 3,4 nm, contient dix paires de désoxyribonucléotides distantes de 0,34 nm. Son diamètre extérieur est de 2 nm. Sa longueur est fonction de la nature de la cellule à laquelle elle appartient. L'ADN d'une bactérie *Escherichia coli* a 1 mm de long et contient 4×10^4 paires de désoxyribonucléotides, tandis que celui d'une cellule humaine haploïde (comme le spermatozoïde) en renferme 10^9 et aurait une longueur totale de 1 mètre si l'ADN des 23 paires de chromosomes était placé bout à bout.

Le terme d'*antiparallèle* s'explique ainsi : la séquence d'un des brins est la suivante :

- phosphate (PO_4) ;
- carbone $3'$ du désoxyribose ;
- carbone $5'$ du désoxyribose ;
- phosphate, etc.

soit : PO_4 $3'$ $5'$ PO_4 $3'$ $5'$ PO_4 , tandis que les séquences de l'autre brin sont disposées dans un ordre inverse, c'est-à-dire PO_4 $5'$ $3'$ PO_4 $5'$ $3'$ PO_4 .

L'ADN s'associe d'une manière permanente à des *histones* avec lesquelles il constitue les fibres nucléosomiques. Il s'associe par intermittence avec des protéines non histones, qui comprennent les protéines régulatrices de la transcription (les protéines à doigts de zinc, les protéines à Leu zipper « fermeture éclair à leucine »), les protéines enzymatiques (ARN polymérases, ADN polymérases et primases), les lamines.

E. Réplication de l'ADN : généralités

La réplication est un mécanisme complexe, au cours duquel la quantité de matériel génétique cellulaire double. Elle se déroule pendant la *phase S* (phase de synthèse du cycle cellulaire), au moment de la préparation de la cellule à la mitose. Elle donne naissance à des molécules d'ADN absolument superposables aux molécules d'ADN existant auparavant. La réplication obéit à des règles rigoureuses.

1. Précision et rapidité

La réplication doit être précise et rapide. Chez les mammifères, et en particulier chez l'Homme, la vitesse de polymérisation atteint 50 nucléotides par seconde et 500 nucléotides chez les bactéries.

2. Brins matrices

Chacun des brins de la molécule d'origine (molécule parentale) sert de *matrice* pour former un nouveau brin (fig. 10.8).

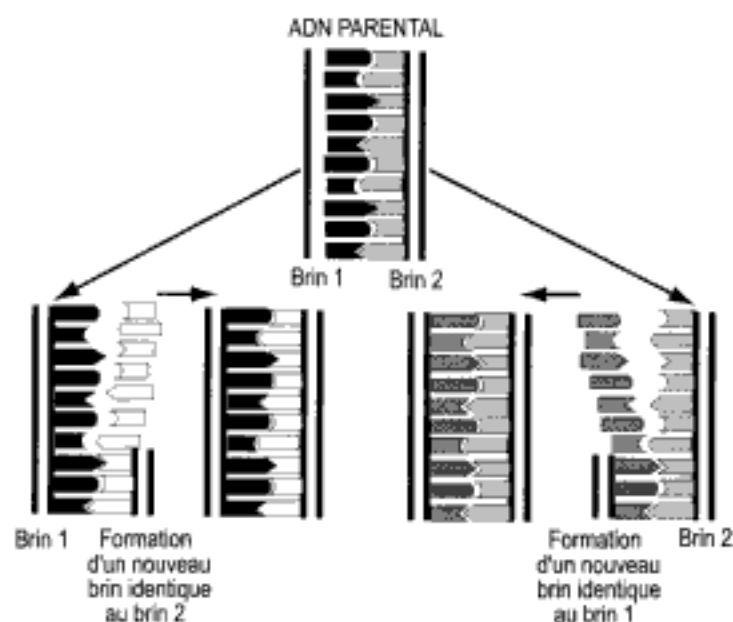


Fig. 10.8
Réplication de l'ADN.

Le brin n° 1 de la molécule parentale sert de matrice pour la formation d'un nouveau brin. Il en est de même pour le brin n° 2 de la molécule d'origine.

Un tel mécanisme implique que :

- les séquences nucléosidiques sont copiées par appariement de bases complémentaires (A avec T et G avec C) en une séquence complémentaire d'ADN ;

- les deux chaînes de l'hélice d'ADN se séparent provisoirement, afin que les groupes donneur et accepteur de liaisons hydrogènes sur chaque base deviennent exposés pour l'appariement.

3. Réplication semi-conservative

Chacune des deux molécules formées par réplication contient une chaîne de la molécule d'ADN d'origine.

Ainsi, à partir d'une molécule d'ADN constituée par deux chaînes désignées par 1 et 2, il se forme deux paires de chaînes 1-2' et 2-1', comprenant chacune une chaîne parentale (brin de la molécule originale) et une chaîne nouvellement synthétisée, dont la séquence en bases est identique à celle de la chaîne qu'elle remplace. 2 et 2' sont identiques, de même que 1 et 1'.

4. Réplication orientée

La *duplication* s'effectue à partir du point initiateur. Chaque brin parental se sépare de l'autre dans la région où s'opérera la synthèse de deux nouveaux brins. Cette zone de séparation des brins porte le nom d'*œil de réplication* : elle existe aussi bien chez les *procaryotes* que chez les *eucaryotes*. Les points de croissance ou de branchement correspondent aux zones situées de part et d'autre de l'œil de réplication et où se rejoignent les brins parentaux.

Au niveau de chaque point de croissance, les deux brins de l'ADN disposés en spirales se séparent l'un de l'autre, exposant ainsi leurs bases (fig. 10.9 et 10.10). Les régions de séparation des deux brins portent le nom de *fourche de réplication*. Les deux spires de l'ADN se déroulent à une vitesse supérieure à 10 000 spires/min.

5. Réplication bidirectionnelle

Elle s'effectue dans les deux directions à partir du point d'initiation.

F. Réplication de l'ADN de procaryotes

La réplication de l'ADN dans les cellules procaryotes et eucaryotes se fait selon un mécanisme pratiquement identique. Elle est cependant beaucoup plus complexe chez les eucaryotes.

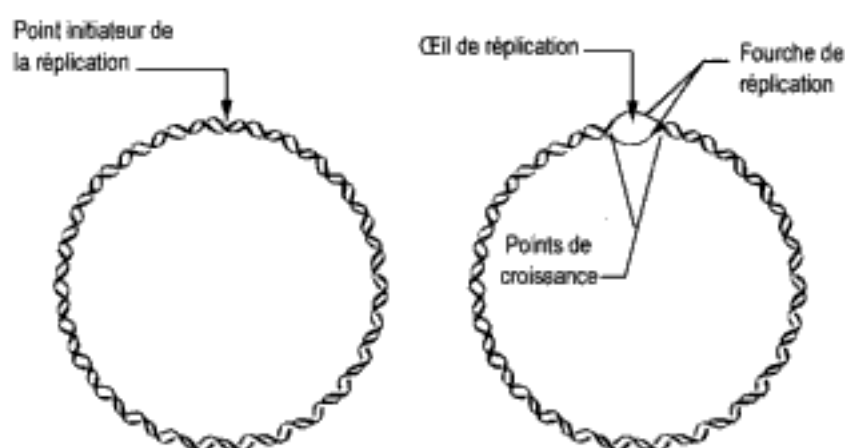


Fig. 10.9
Formation de l'œil de réplication à partir du point initiateur de la réplication.

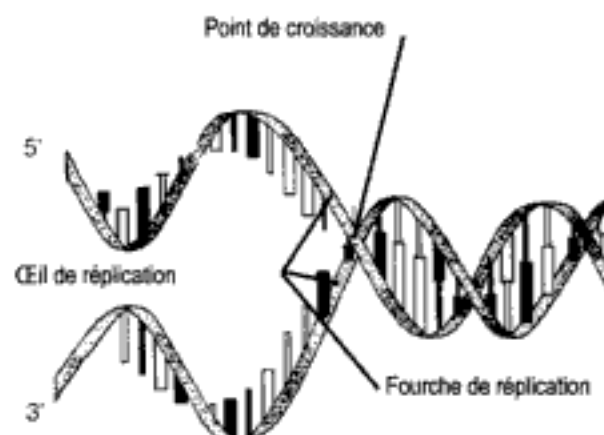


Fig. 10.10
Fourche de réplication.

Une bactérie, *Escherichia coli*, fournit un excellent modèle pour étudier et comprendre le mécanisme de la réplication dans les autres types cellulaires.

1. Origine

La réplication de l'ADN commence au niveau d'un site spécifique, le *site OriC* (origine de réplication chez *Escherichia coli*).

OriC est une séquence de 245 paires de bases qui contient 4 sites de liaison de 9 pb auxquels la protéine *dnaA*, une protéine de l'initiation de la réplication appelée l'initiateur, se lie. Elle initie la formation du *primosome* nécessaire à la réplication.

2. Primosome

Le primosome est un complexe protéique, formé essentiellement par l'association d'ADN hélicase et d'ADN primase qui est responsable de la synthèse d'amorces d'ARN nécessaire à la réplication. La réplication est effectuée par l'ADN polymérase qui lit les brins d'ADN uniquement dans le sens 3'-5' (fig. 10.11).

Au niveau de la fourche de réplication, le *brin 3'-5'* est répliqué d'une *manière continue* (ce brin est le brin précoce), tandis que le *brin 5'-3'* est répliqué d'une *manière discontinue* : c'est le brin « tardif » car sa réplication survient après celle du brin précoce. Une *seule amorce d'ARN* suffit pour la réplication du *brin précoce* alors que *plusieurs amorces d'ARN* sont nécessaires pour la réplication du brin tardif.

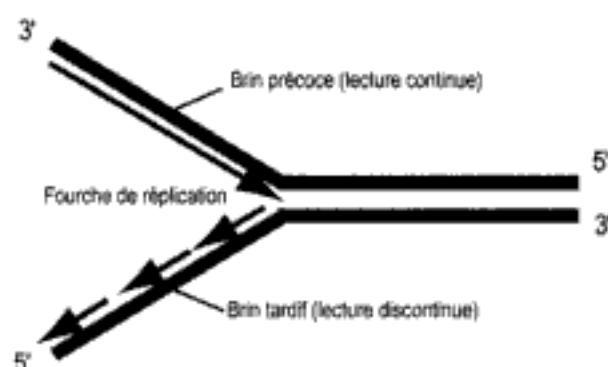


Fig. 10.11
Réplication d'ADN au niveau de la fourche de réplication.

3. ADN polymérases

Il existe, chez les procaryotes, trois ADN polymérases :

- l'*ADN polymérase I* a un rôle limité. Elle ne peut réaliser qu'une vingtaine de liaisons phosphodiester avant de se dissocier. Elle synthétise des fragments d'ADN à partir de la matrice en ajoutant 10 désoxynucléotides par seconde. Son rôle est de « boucher les trous », c'est-à-dire les zones de discontinuité de l'ADN et d'éliminer l'amorce d'ARN nécessaire à la synthèse des brins d'ADN ;
- l'*ADN polymérase II* participe à la réparation de l'ADN : elle n'est pas nécessaire à la réplication ;
- l'*ADN polymérase III* intervient dans la synthèse de l'ADN des deux brins.

Il existe un certain nombre de points communs entre ces trois polymérases : elles catalysent une *synthèse* à partir d'un *brin matriciel* d'ADN en utilisant des précurseurs désoxyribonucléosides triphosphates. La *lecture du brin* se fait dans le sens $3' \rightarrow 5'$ et la *synthèse* s'effectue dans le sens $5' \rightarrow 3'$,

4. Formation de l'œil de réplication

Les protéines *dnaA* amorcent un déroulement de l'ADN. *DnaB* (fig. 10.10) et *dnaC* s'associent à *dnaA*. La *protéine dnaB* est une *hélicase*, une enzyme ATP-dépendante, qui catalyse le déroulement de la double hélice de l'ADN. Elle crée ainsi un *œil de réplication* de plusieurs centaines de nucléotides.

La portion déroulée est stabilisée, maintenue déroulée par les *molécules SSB* (*Single Strand Binding proteins* ; protéines se liant à un seul brin). Les protéines SSB sont des tétramères de sous-unités de 19 kDa chacune. Elles se lient à l'ADN simple brin.

5. Synthèse d'une amorce d'ARN

L'ADN exposé dans l'œil de réplication n'est *répliqué* que si une *amorce d'ARN* est synthétisée. L'*ADN polymérase III* synthétise l'ADN à partir de cette amorce d'ARN qui possède, à son extrémité $3'$ libre, un groupe OH. La formation des amorces d'ARN par le *primosome* est effective dès l'ouverture de l'œil de réplication. L'*ARN primase* (*dnaG*) du primosome synthétise un segment d'ARN comptant au maximum 5 *nucléotides complémentaires*. Ces ARN polymérases n'examinent jamais la paire de bases précédentes : elles peuvent donc commencer la synthèse d'une courte molécule d'ARN. Dès que ce segment d'ARN est synthétisé, l'*ADN polymérase III* commence la synthèse d'une nouvelle molécule d'ADN puisqu'elle reconnaît le groupe $3'$ -OH situé à l'extrémité d'une amorce. Elle commence la lecture de la chaîne d'ADN en direction du point de croissance de la fourche et assemble des nucléotides en une nouvelle chaîne complémentaire du brin matriciel. L'amorce d'ARN est éliminée lorsque la réplication est terminée.

6. Élongation

Lorsque la réplication est commencée, elle se poursuit à partir de l'origine, dans les deux directions : elle est *bidirectionnelle*.

Chacun des deux brins d'ADN situés au niveau des fourches de réplication sert de matrice pour la synthèse d'une nouvelle molécule d'ADN. Les deux

brins parentaux sont antiparallèles : l'un va dans le sens $5' \rightarrow 3'$ et l'autre dans le sens $3' \rightarrow 5'$.

Les ADN polymérases ne synthétisent l'ADN que dans le sens $5' \rightarrow 3'$ (ce qui signifie que pour réaliser la synthèse d'un nouveau brin d'ADN, elles lisent la molécule d'ADN dans le sens $3' \rightarrow 5'$). La question se pose donc de savoir comment l'autre brin, c'est-à-dire le brin $3' \rightarrow 5'$, peut être traduit en une nouvelle molécule d'ADN.

a. Synthèse du brin précoce

Après synthèse d'une seule amorce d'ARN, l'ADN polymérase III se place au niveau de la fourche de réplication. Elle reconnaît l'extrémité $3'$ -OH de l'amorce d'ARN, s'y fixe et commence à synthétiser un segment d'ADN (fig. 10.12).

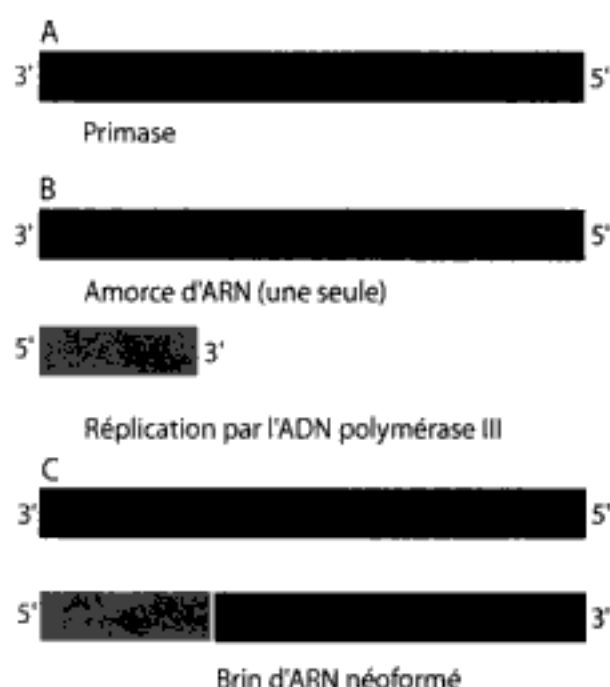


Fig. 10.12

Réplication du brin précoce.

A. Brin parental précoce. B. Mise en place de l'amorce d'ARN.

C. Réplication continue. Réplication par l'ADN polymérase III.

L'hélicase, qui précède la polymérase, déroule l'ADN double brin. Mais le déroulement produit, en aval de la fourche de réplication, un superenroulement de l'ADN qui risque de provoquer une rupture de la molécule. L'ADN gyrase agit sur le superenroulement provoqué par l'hélicase en coupant les chaînes superenroulées situées en aval de la fourche de réplication et en les ressoudant pendant la progression de l'hélicase.

Les protéines SSB maintiennent l'ADN déroulé : chacun des deux brins peut donc servir de matrice.

Le brin direct est synthétisé en une seule fois. L'ADN polymérase III se détache de la matrice lorsque la synthèse est achevée.

b. Synthèse du brin retardé

La lecture du brin orienté dans le sens $5' \rightarrow 3'$ ne peut se faire que dans le sens $3' \rightarrow 5'$. Cela ne peut s'expliquer que par la formation d'une boucle (fig. 10.13).

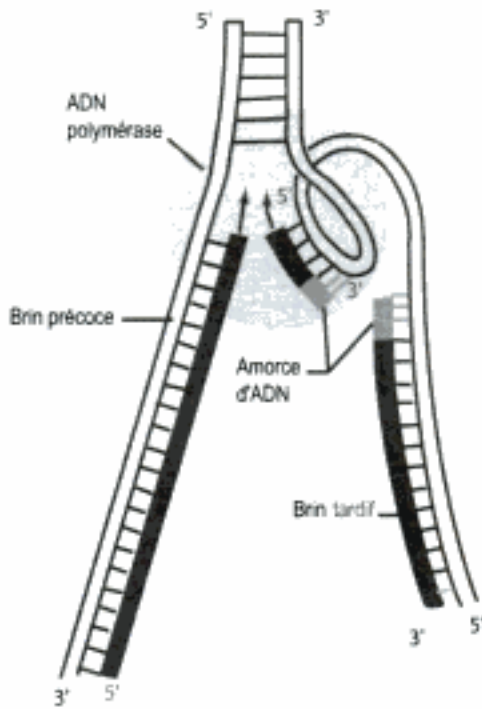


Fig. 10.13

Lecture du brin retardé par l'ADN polymérase.
D'après Lubert Stryer.

Ainsi on peut supposer que la matrice du brin retardé passerait dans la polymérase dimérique dans le même sens que le brin direct. La lecture du brin retardé se ferait à partir d'une succession de boucles contenant un nombre limité de bases (environ une centaine). Pour la réplication de l'ADN à partir de chaque boucle, une primase synthétise une amorce d'ARN, l'ADN polymérase réplique une centaine de nucléotides. L'ADN polymérase III abandonne alors le brin retardé. Une nouvelle boucle se forme, la primase synthétise une nouvelle amorce d'ARN, l'ADN polymérase réplique encore une centaine de nucléotides, etc. Ce mécanisme se poursuit jusqu'à ce que la totalité de la matrice du brin retardé soit lue. Il s'est formé toute une succession de fragments d'ADN qui portent le nom de *fragments d'Okazaki*.

La fin de la synthèse du brin retardé se fait grâce à l'activité de :

- l'*ADN polymérase I* : elle élimine les amorces d'ARN (activité exonucléasique dans le sens $5' \rightarrow 3'$) et comble les espaces laissés vides par l'élimination des amorces d'ARN ;
- la *ligase* qui réunit les segments d'ADN les uns aux autres.

7. Terminaison de la réplication

Les deux fourches de réplication, au fur et à mesure de la synthèse, s'écartent progressivement l'une de l'autre : elles finissent par se rencontrer en un point de la molécule circulaire d'ADN diamétralement opposé à l'origine de la réplication. Ce point de rencontre contient des sites de liaisons, les sites *ter* qui constituent, sur la molécule d'ADN d'*E. coli*, une zone de terminaison. Des protéines de liaison fixées sur les sites *ter* bloquent le déroulement de la molécule d'ADN provoqué par les hélicases (*dnaB*). La réplication est interrompue. Une *topo-isomérase* sépare les deux chromosomes fils l'un de l'autre.

G. Réplication de l'ADN des eucaryotes

1. Réplicons ou unités de réplication

La réplication se fait presque simultanément en de nombreuses régions de l'ADN. Ces régions sont des *unités de réplication* ou *réplicons* qui se reproduisent pour leur propre compte (fig. 10.14).

Leur longueur serait comprise, chez les eucaryotes, entre 40 et 400 μm . Le réplicon possède un système de régulation autonome, formé par le gène initiateur de la réplication et le point d'initiation de la réplication.

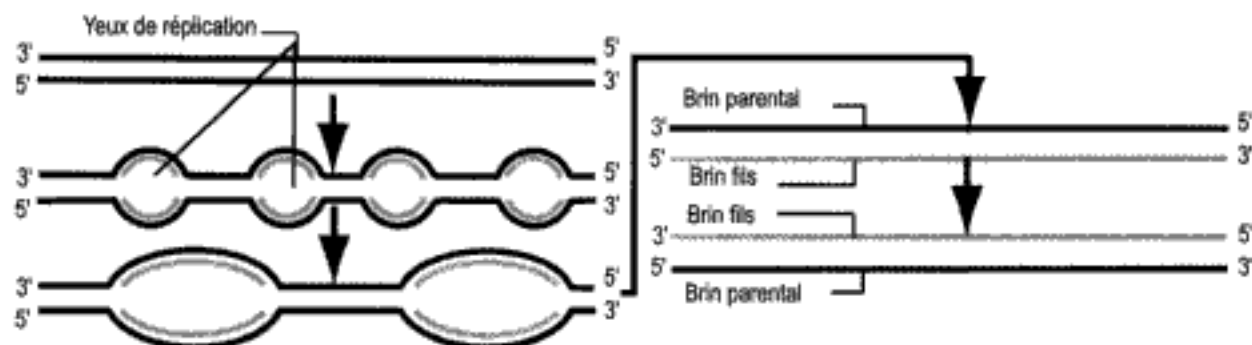


Fig. 10.14

Multiplicité des yeux de réplication chez les eucaryotes.

2. Réplication de l'ADN

Dans les cellules eucaryotes, la *réplication* est également *semi-conservative*, *bidirectionnelle*, *orientée*.

a. Séquences d'origine de réplication

► Définition

Le site d'origine de réplication chez les levures est une séquence d'ADN eucaryote qui permet la réplication autonome d'un vecteur incapable de se répliquer mais n'intervient pas dans sa stabilité.

► Nombre des séquences autonomes de réplication

Chez les eucaryotes, et en particulier chez la *levure*, le site d'origine de réplication porte le nom de *séquence autonome de réplication* ou *ARS* (*Autonomous Replication Sequence*). C'est une séquence consensus de 11 pb qui est un site de fixation spécifique de *ORC* (*Origin Recognition Complex*), un complexe multiprotéique appelé *complexe de reconnaissance de l'origine*. Ces séquences insérées dans les plasmides bactériens leur permettent de se répliquer d'une manière autonome.

Il existe sur un ADN linéaire d'une cellule eucaryote un très grand nombre d'ARS. Au moment de la réplication, il se formera donc une multiplicité de fourches de réplication sur un même chromosome. Les chromosomes, chez les levures, possèdent environ 400 ARS distribuées dans leur ADN. Il est facile de calculer le nombre de fourches de réplication sur un chromosome. Il suffit de savoir que, sur un chromosome de drosophile, la fourche de réplication se déplace à une vitesse de 2,6 kb/min. Pour répliquer

complètement ce chromosome, avec une seule fourche de réplication, il faudrait environ 16 jours. Or le temps de réplication est de 3 min. Il existe donc en fait plus de 6 000 fourches de réplication.

b. Formation du complexe de préréplication

► Définition

Les complexes de préréplication sont de volumineux complexes moléculaires qui se constituent au niveau des origines de réplication à la fin de l'anaphase ou au tout début de la prophase.

► Formation du complexe de préréplication

Un complexe multiprotéique ORC se fixe sur des séquences spécifiques qui définissent les origines de réplication. ORC ne déclenche pas la réplication.

Au début de la phase G₁, les protéines appelées *Cdc6p* (*Cell division cycle 6 protein* ; protéine 6 du cycle de division cellulaire) et *Cdt 1* se combinent au complexe ORC.

Puis un complexe hexamérique *Mcm 2-7* (*Minichromosome maintenance* ; maintien des minichromosomes), probablement une hélicase ATP-dépendante (elle déroule les brins d'ADN), se fixe sur le complexe *ORC-Cdc6p-Cdt 1*.

Le complexe *ORC-Cdc6p-Cdt 1* reçoit les facteurs requis pour le démarrage proprement dit de la réplication : *Cdc45*, *RFA* (*Replication Factor A*) et l'ADN polymérase I.

► Assemblage du complexe

Il est sous la dépendance, d'une façon qui n'est pas encore claire, de kinases et en particulier de *Cdc6p-Cdk* chez les levures. Ces kinases permettent la fixation des protéines *Mcm* sur l'ADN, uniquement lorsque « *SPF* » (*phase S Promoting Factor* ; facteur promoteur de la phase S) ne possède pas d'activité protéine kinase. Chez les mammifères, « l'équivalent de *SPF* » est le *MPF* (voir chapitre 12, p. 307).

La réplication débute avec la phosphorylation des protéines *Mcm* et de *Cdc6p* par une kinase.

Immédiatement après cette phosphorylation, *Cdc6p* et *Cdk* se séparent de l'ADN et gagnent le cytoplasme où ils seront détruits.

c. Contrôle de l'autorisation de réplication

► Rôle du complexe de préréplication

Il a une fonction régulatrice : il reçoit les stimuli susceptibles de déclencher la duplication de l'ADN et contrôle la périodicité de cette duplication qui doit se faire une seule et unique fois par cycle cellulaire.

► Contrôle par la gémnine

Pendant la phase S, l'accumulation d'une protéine, la *gémnine*, inhibe l'assemblage de nouveaux complexes de préréplication jusqu'à la fin de la mitose suivante ; en sa présence le complexe *Cdc6-Cdk* (voir chapitre 12, p. 307) ne peut charger les protéines *Mcm* sur l'ADN. *APC*, le complexe promoteur de l'anaphase, dégrade la gémnine de telle sorte que sa

concentration demeure extrêmement faible depuis l'anaphase jusqu'à la fin de G1 où un nouveau complexe de préréplication s'assemble. Ainsi, grâce à la géminine, il ne peut y avoir qu'une seule réplication par cycle cellulaire.

Les levures sont dépourvues de géminine.

► Contrôle par la séquestration cytoplasmique

L'expérience suivante démontre que des facteurs d'assemblage du complexe de préréplication sont présents dans le cytoplasme et que leur exclusion du noyau empêche l'assemblage du complexe et donc une nouvelle réplication de l'ADN. Des extraits d'œufs de xénope sont utilisés pour créer un milieu acellulaire où l'ADN peut se répliquer. Des noyaux en phase G1 placés dans ce milieu ne répliquent leur ADN qu'une fois et les noyaux en phase G2 ne se répliquent pas. L'enveloppe de noyaux en phase G1 et G2 placés dans ce milieu est perforée par micromanipulation : après réparation des perforations, tous les noyaux répliquent leur ADN une deuxième fois.

Après le début de la phase S, certaines molécules chargées de l'assemblage du complexe de réplication sont en effet séquestrées dans le cytoplasme : chez les eucaryotes supérieurs, c'est Cdk1 qui est exclu du noyau. Chez les levures, ce sont les protéines Mcm.

3. Les diverses ADN polymérases

Les cellules eucaryotes contiennent cinq ADN polymérases (quatre ADN polymérases nucléaires et une mitochondriale) :

- l'ADN polymérase α (250 kDa) intervient dans la synthèse du brin précoce ;
- l'ADN polymérase β (39 kDa) intervient dans la réparation de l'ADN nucléaire ;
- l'ADN polymérase γ intervient dans la réplication de l'ADN mitochondrial ;
- l'ADN polymérase δ intervient dans la synthèse du brin tardif ;
- l'ADN polymérase ϵ intervient dans la réparation de l'ADN nucléaire.

Ces ADN polymérases lisent les brins d'ADN dans le même sens que chez les procaryotes, c'est-à-dire dans le sens $3' \rightarrow 5'$.

La *réplication* est conditionnée par la présence d'une *amorce d'ARN*. La synthèse discontinue du brin retardé est catalysée par l'ADN polymérase δ . Une primase est associée au complexe α : elle permet de synthétiser des fragments d'ARN qui serviront d'amorces et qui, après utilisation, seront éliminés.

Les polymérases δ , ϵ et γ possèdent une activité exonucléasique $3'-5'$ douée de capacités d'édition.

4. Réplication et matrice nucléaire

a. Réplication et déplacement de l'ADN

Des cellules en culture sont exposées, pendant un temps très court, à un précurseur radioactif de l'ADN (pulse court), puis fixées immédiatement après : on constate que 80 % des éléments marqués sont associés à la matrice nucléaire. Mais si après la brève exposition au précurseur radioactif, ces cellules sont placées, pendant une heure, dans un milieu

contenant des précurseurs non marqués, la radioactivité est alors localisée dans les boucles d'ADN et non dans la matrice. Cette expérience indique qu'au cours de la réplication, la molécule d'ADN se déplace à travers la machinerie de réplication immobilisée contre la matrice.

b. Foyers de réplication

La *visualisation* des fourches de réplication est possible grâce à l'utilisation de précurseurs marqués par un composé fluorescent rouge déposé dans un milieu de culture cellulaire. Le désoxyribonucléotide marqué est incorporé dans l'ADN en cours de réplication. L'examen des cellules en microscopie confocale révèle que les *fourches de réplication* ne sont pas réparties au hasard. Les foyers de réplication apparaissent sous la forme de taches rouges, environ 50 à 250, situées dans le noyau. Chaque tache rouge contient approximativement 40 fourches de réplication incorporant simultanément les précurseurs marqués dans les brins d'ADN.

5. Réplication des télomères

L'extrémité des chromosomes porte le nom de télomère. L'ADN télomérique est constitué par la répétition de séquence de 6 nucléotides (séquence hexanucléotidique) chez l'Homme. Elle est constituée par la succession d'une molécule d'adénine, de trois molécules de guanine et de deux molécules de thymine, soit AGGGTT.

La réplication de l'ADN linéaire raccourcit le brin retardé : en effet, à chaque réplication, l'*amorce d'ARN* qui est complémentaire de l'extrémité 3' du brin parental est *éliminée* et ne peut pas être remplacée par l'activité de l'ADN polymérase. Un tel mécanisme raccourcit le brin retardé, c'est-à-dire l'extrémité 5' qui est adjacente de l'extrémité 3' (fig. 10.15). S'il n'existait pas un *mécanisme correcteur*, les molécules filles deviendraient de plus en plus petites au fur et à mesure des cycles de réplication.

Une enzyme, la *télomérase*, intervient pour ajouter des nucléotides à l'extrémité 5' du brin nouvellement synthétisé. La télomérase est une transcriptase inverse qui porte une matrice de nature nucléotidique (fig. 10.16). Chez l'Homme, la télomérase reconnaît GGTT et l'allonge pour former GGTTAGGGTT.

Elle se lie à l'extrémité 3' de l'ADN télomérique. Des nucléotides de cette extrémité libre (puisque la molécule d'ARN amorce a été éliminée) forment des paires de bases avec l'ARN matriciel de la télomérase. L'extrémité 3' est ainsi allongée. Or c'est l'extrémité 5' qui doit être allongée. Le brin direct, qui se termine par un groupe G-OH libre, forme une boucle dont l'extrémité se placerait au voisinage de l'extrémité 5'. L'extrémité libre G-OH servirait alors d'amorce pour la synthèse du brin complémentaire qui s'associerait à l'extrémité 5'. On pense que la *polymérase α* , avec la sous-unité *primase*, interviendrait dans l'achèvement de la synthèse des télomères.

H. Réparation de l'ADN

Plusieurs mécanismes rectifient les erreurs de réplication de l'ADN.

Fig. 10.15

La réplication raccourcit le brin fils du brin parental lu dans le sens 5'-3'.

A. L'ADN polymérase lit les brins dans le sens 3'-5'. Le brin fils précoce est synthétisé à partir d'une seule amorce d'ARN qui n'est pas située à l'extrémité de la molécule d'ADN : l'amorce d'ARN est remplacée. Lorsque l'ADN polymérase lit le brin parental dans le sens 5'-3', elle réalise la synthèse à partir de plusieurs amorces dont une est située à l'extrémité de la molécule d'ADN.

B. Les amorces sont éliminées par l'ADN polymérase I qui peut lire alors l'ADN du brin retardé et synthétiser les segments d'ADN qui manquent après élimination des amorces.

C. Mais l'amorce d'ARN terminale ne peut pas être remplacée par la polymérase I. S'il n'existe pas de mécanisme régulateur, le brin fils du brin parental orienté dans le sens 5'-3' sera raccourci à chaque réplication.

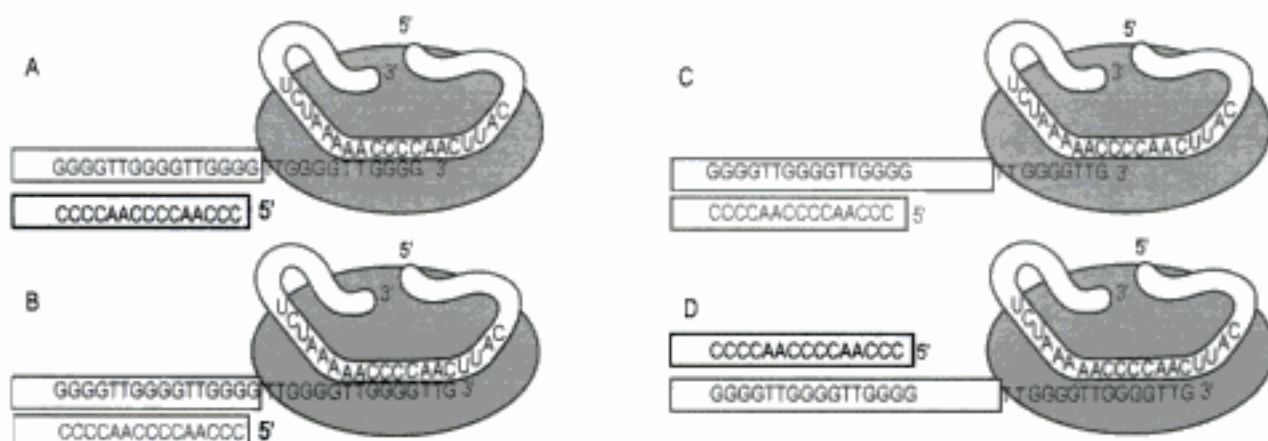
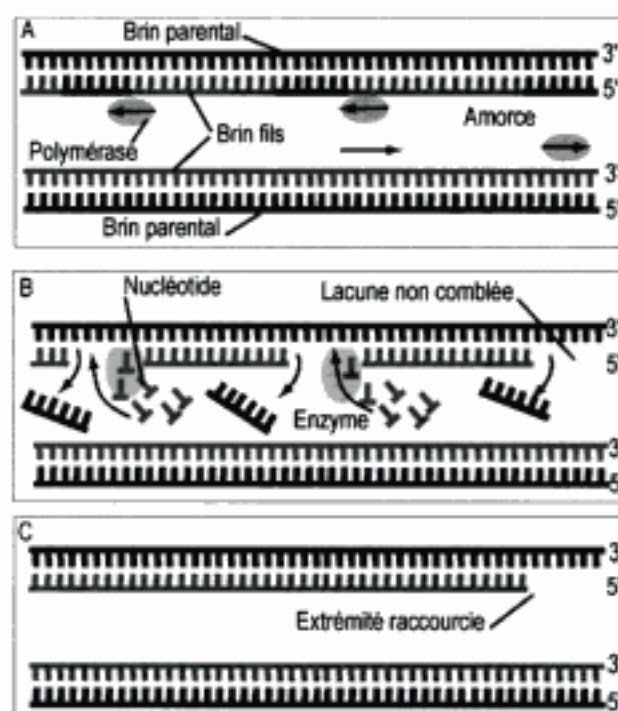


Fig. 10.16

La télomérase.

Allongement de l'extrémité 3' de l'ADN télomérique du brin précoce. Ce segment d'ADN servira de matrice pour assurer l'allongement du brin retardé.

1. Pendant la phase S

a. Rôle de l'ADN polymérase

Des erreurs, peu fréquentes, certes, mais suffisantes pour provoquer une mutation nocive se produisent au cours de la réplication. *In vitro*, chez *E. coli*, les ADN polymérases introduisent une base incorrecte sur 10 000 bases.

L'ADN polymérase a la possibilité de détecter les bases anormales de l'ADN, sur épreuve, pendant la phase S, de les exciser grâce à son activité exonucléasique et de les remplacer.



Fig. 10.17

Correction sur épreuves des mésappariements.

A. 1. Brin matriciel. 2. Brin néosynthétisé (mésappariement et brèche). **B.** Deux protéines (MutS et MutL) interviennent dans la correction sur épreuves. **C.** MutS repère les mésappariements, MutL les brèches. **D.** Les anomalies étant réparées, le brin néosynthétisé est excisé. **E.** Le brin est réparé.

b. Rôle de MutL et MutS (Mut : *Mutator* ; mutateur)

Le mésappariement entre des bases normales, mais non complémentaires, provoque la formation d'une protubérance dirigée vers l'extérieur de l'hélice (fig. 10.17).

Cette protubérance est détectée pendant la phase S par une protéine MutS (qui existe aussi bien dans les cellules eucaryotes que procaryotes), tandis qu'une autre protéine MutL recherche une zone d'interruption sur la région voisine de l'ADN néosynthétisé. S'il existe une zone d'interruption, MutL excise le brin au niveau du mésappariement, de telle sorte que le segment compris entre la zone d'interruption et le site de mésappariement est éliminé. L'ADN polymérase recommence la synthèse du segment éliminé.

2. En dehors de la phase S

En dehors de la phase S, une nucléase de réparation de l'ADN reconnaît la partie modifiée de la chaîne d'ADN endommagée. Elle élimine le nucléotide endommagé, en hydrolysant les liaisons phosphodiester qui les unissent au reste de la molécule. La chaîne d'ADN est interrompue au niveau du nucléotide éliminé.

Une ADN polymérase comble cette interruption immédiatement, en fabriquant une copie complémentaire de la chaîne matrice. Une *ligase* répare la zone de rupture en soudant, l'un à l'autre, les deux segments de la chaîne interrompue.

a. Réparation sans excision

Dans l'épiderme, les *photolyases* (enzymes dont l'énergie est fournie par des photons) interviennent directement sur les lésions, sans exciser les bases ou le désoxyribose.

b. Excision-réparation de bases

Une série d'*ADN glycosylases* intervient dans ce mode de réparation. Chaque ADN glycosylase reconnaît une base altérée. Ces altérations comprennent des bases oxydées ou alkylées, des bases dont le cycle est

ouvert, des cytosines désaminées, des adénines désaminées. Une ADN glycosylase élimine la base non conforme (excision), qu'il s'agisse d'une base purique ou pyrimidique : le site de l'ADN ainsi modifié devient un site AP (site apurique-apyrimidique). Le brin d'ADN est interrompu au niveau de l'excision. Il est alors constitué par deux segments. Ce mécanisme de correction pendant la phase S porte le nom de correction sur épreuves.

Une AP-endonucléase, qui appartient à un complexe enzymatique, élimine, par hydrolyse de la liaison phosphodiester, le désoxyribose qui était lié à la base précédemment excisée.

Une ADN polymérase (différente de celle intervenant dans la duplication) associe un nucléotide de forme complémentaire de celle du nucléotide qui était associé au nucléotide excisé.

Les deux segments du brin d'ADN sont reliés l'un à l'autre par l'action d'une ligase qui rétablit la continuité.

c. Excision-réparation d'un oligonucléotide

Un oligonucléotide, constitué d'une dizaine de nucléotides anormaux ou lésés, est éliminé par une excinuclease contenue dans un complexe enzymatique.

Une ADN polymérase, par complémentarité du brin matrice, remplace les nucléotides éliminés. Une *ligase* rétablit la continuité du brin.

d. Signal Sos

Une lésion importante de l'ADN peut provoquer un blocage de la réplication. Ce blocage induit la formation d'un signal. Ce signal active une protéine RecA (Rec : recombinaison), qui détruit un répresseur dont l'activité normale est de réprimer les gènes de la réponse Sos (les gènes de la réponse Sos codent des protéines de réparation de l'ADN). Le système de réparation de l'ADN est ainsi activé.

I. Gènes

1. Définition

Un gène correspond à une partie de la molécule d'ADN qui est transcrite en ARN : sa transcription dépend d'une région de contrôle génique qui comprend le promoteur et des séquences régulatrices parfois très éloignées (50 kb) (certains auteurs placent, dans le gène, les séquences d'ADN qui contrôlent le fonctionnement de la transcription).

2. Structure

Les gènes de classe II (les gènes de classe I sont des gènes ribosomiaux), qui codent pour les protéines, contiennent des introns qui séparent des exons (fig. 10.18). Seuls les exons, raboutés après excision des introns lors de l'épissage, se retrouvent dans l'ARNm.

Le gène débute par un site d'initiation de la transcription et se termine à la fin du dernier exon. Ils sont représentés en gris sur la figure 10.18.

Le gène est constitué par une succession d'introns et d'exons. Les exons persistent dans l'ARN mature, tandis que les introns sont éliminés (épissage).

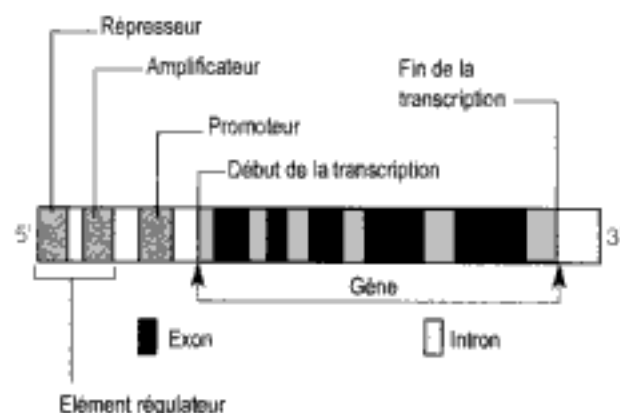


Fig. 10.18
Représentation schématique d'un gène.

En amont du site où commence la lecture pour la transcription, c'est-à-dire du côté 5', se situe une région flanquante qui contient le promoteur, une séquence d'ADN spécifique qui contrôle le taux de transcription du gène.

Le promoteur, dans le sens communément admis, est constitué par :

- le cœur du promoteur (*core promoter*) qui est formé par une séquence TATA (ou boîte TATA) localisée 25 à 30 pb en amont du site d'initiation de la transcription, et, en général, une séquence CAAT, 70 à 80 pb en amont du site d'initiation. La boîte TATA, inconstante, est reconnue par la protéine TBP (*TATA-Binding Protein* ; protéine de liaison de TATA) ; le cœur du promoteur permet la fixation de l'ARN polymérase, l'ouverture de la double hélice et le début de la synthèse de l'ARNm au nucléotide correct d'initiation ; il dirige donc le taux basal de transcription ;
- une région proximale, juste en amont du cœur du promoteur, qui contient des sites de fixation pour des facteurs de transcription ; cette région proximale diffère des régions régulatrices distales (voir paragraphe suivant) car, contrairement à ces dernières, elle ne peut être ni déplacée, ni inversée. Cette région proximale, par recrutement de facteurs de transcription spécifiques, participe à la régulation (positive ou négative) du taux de transcription.

3. Régions régulatrices distales

Des régions régulatrices (amplificateur et répresseur), parfois très éloignées (50 kb), contrôlent l'activité du promoteur. Elles se localisent en amont ou en aval du gène. Comme la région promotrice proximale, ces régions de l'ADN possèdent des séquences nucléosidiques qui sont reconnues par les facteurs de transcription. Elles s'en distinguent par le fait qu'elles peuvent agir indépendamment de leur orientation (3'-5' ou 5'-3') et de leur position.

4. Effets de position

Le déplacement d'un gène de la région d'ADN où il est normalement actif vers les télomères (l'ADN des télomères est particulièrement condensé), provoque son inactivité. Cette extinction du gène est un effet de position.

POINTS CLÉS

- L'ADN, un polymère de quatre nucléotides (l'acide adénylique, thymidylique, cytidylique et guanylique) est une molécule bicaténaire (deux brins hélicoïdaux, antiparallèles, appariés l'un avec l'autre par des bases de forme complémentaire : A=T, C=G). La molécule d'ADN est associée aux histones groupées en nucléosomes.
- La réplication de l'ADN se fait toujours à partir d'une amorce d'ARN ; elle est rapide, précise, orientée, semi-conservative, bidirectionnelle. L'ADN polymérase lit chacun des brins : l'un est lu d'une manière continue dans le sens 3' → 5' (synthèse du brin avancé), l'autre d'une manière discontinue (brin retardé) dans le sens 5' → 3' (synthèse de fragments d'Okazaki à partir de plusieurs amorces d'ARN).
- L'ADN est réparé soit pendant la phase S (correction sur épreuve), soit en dehors de la phase S (sans excision ou avec excision des bases altérées ou incorrectes). Un gène comprend la partie de l'ADN qui est transcrite en ARN et le promoteur. Son activité est contrôlée par des régions régulatrices (amplificateurs et répresseurs).

V. Les ARN

L'ARN, contrairement à l'ADN, est monocaténaire. Il possède les mêmes constituants que l'ADN, à l'exception du désoxyribose qui est remplacé par le ribose et d'une base pyrimidique, la *thymine*, qui est remplacée par l'uracile.

Les ARN regroupent principalement les ARNm, les ARNt, les ARNr.

A. ARNm

L'ARNm est constitué par l'ensemble des *exons* du gène, mis en continuité lors de l'étape d'*épissage des introns*. La séquence ainsi constituée contient un cadre de lecture pour les ribosomes, qui est la succession des codons (séquences de trois bases) responsable de l'ordre dans lequel les acides aminés seront assemblés. Le cadre de lecture est défini par le codon de début de lecture ou codon initiateur (AUG) et le codon de fin de lecture ou codon stop (UAA, UAG, UGA).

B. ARNt

L'ARNt, en forme de trèfle, se replie sur lui-même, car il possède, par places, des séquences autoccomplémentaires (fig. 10.19).

Il comprend trois boucles : une boucle D (ou boucle 1), une boucle anticodon (ou boucle 2), une boucle T (ou boucle 3), et quatre branches : une branche acceptrice qui s'associe à l'acide aminé qu'elle doit transporter, une branche D, une branche T et la branche de l'anticodon. La branche acceptrice ou péricodon (où se fixera spécifiquement un acide aminé) possède une extrémité 3' (de la molécule monocaténaire), dont la séquence terminale est toujours CCA, et une extrémité 5' voisine, liée à une molécule de phosphate.

C. ARNr

Voir chapitre 16, p. 446.

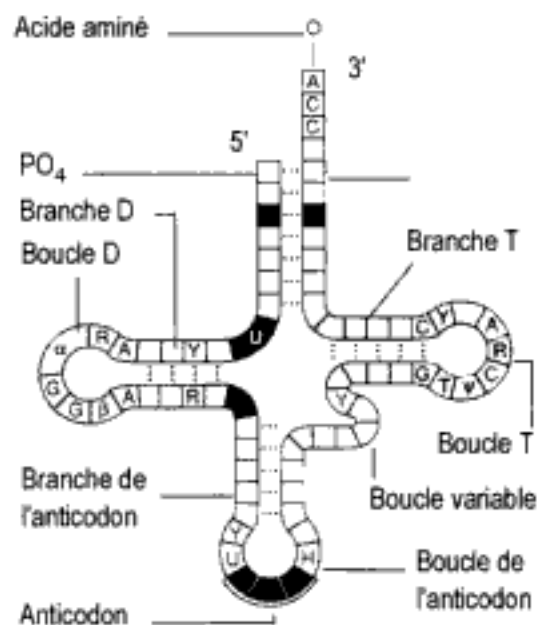


Fig. 10.19

Structure primaire schématique d'une molécule d'ARNt.

D. Transcription de l'ADN chez les procaryotes

1. ARN polymérase des procaryotes

Chez *E. coli*, l'ARN polymérase (500 kDa) est constituée par quatre sous-unités, les sous-unités α , β , γ , σ :

- la sous-unité α (38 kDa) est synthétisée par le gène *rpoA* : elle se lie aux séquences régulatrices ;
- la sous-unité β (151 kDa) est synthétisée par le gène *rpoB* : elle forme les liaisons phosphodiester ;
- la sous-unité β' (155 kDa) est synthétisée par le gène *rpoC* : elle se lie avec l'ADN matriciel ;
- la sous-unité σ (70 kDa) est synthétisée par le gène *rpoD* : elle reconnaît le promoteur et initie la synthèse.

2. Différentes fonctions assumées par l'ARN polymérase

Elle recherche le site d'initiation. Elle produit une matrice simple brin en déroulant localement l'ADN sur un court segment. Elle sélectionne les ribonucléosides triphosphates corrects. Elle catalyse la formation des liaisons phosphoesters. Elle détecte les signaux de terminaison de la fin de lecture. Elle interagit avec les protéines de répression et d'activation. Elle intervient dans l'initiation de la transcription.

3. Début de la transcription

Le début de la transcription se fait au niveau de promoteurs situés dans la matrice d'ADN. Chez les procaryotes, les promoteurs portent deux motifs communs sur le côté 5' en amont du site d'initiation. Le motif TTGACA est situé à 35 nucléotides et le motif TATAAT à 10 nucléotides du site d'initiation. Au niveau du site d'initiation, le premier nucléotide transcrit est noté 1 et ainsi de suite.

Celui qui précède le premier transcrit est désigné par -1. Il s'ensuit donc que le motif TTGACA est à -35 et le motif TATAAT à -10 nucléotides du site d'initiation.

On distingue deux types de promoteurs :

- les *promoteurs forts* : les gènes qui les possèdent sont transcrits toutes les 2 s ;
- les *promoteurs faibles* : les gènes qui les possèdent sont transcrits toutes les 10 min.

Les séquences des promoteurs forts correspondent étroitement aux séquences consensus. Dans celles des promoteurs faibles, elles présentent de nombreuses substitutions au niveau de ces sites.

La reconnaissance du promoteur est faite par la sous-unité σ : une fois reconnue, l'ARN polymérase se lie à l'ADN, recherche le promoteur en glissant le long du brin d'ADN. Elle ne forme pas de liaison avec le brin. L'ARN polymérase possède de multiples sous-unités σ : la sous-unité σ 70 reconnaît le site promoteur.

Lors d'une augmentation de la température, les promoteurs des gènes de chocs thermiques sont reconnus par la sous-unité σ 32. Le promoteur des gènes de choc thermique possède des séquences -10 très différentes de celle des promoteurs standards : la région -35 est pratiquement la même que celle des promoteurs généraux avec quelques caractères qui les distinguent. Ainsi, en cas de choc thermique, il y a production coordonnée d'une série de protéines protectrices. Il en est de même pour la privation d'azote qui induit la synthèse de sous-unité σ 54.

Au cours de la recherche des sites promoteurs, l'ARN polymérase est liée à l'ADN qui demeure en double hélice. L'ADN en double hélice ne peut servir de matrice pour la synthèse d'ARN. La synthèse ne se fait que dans une région où les brins, bien que possédant des bases complémentaires, ne sont plus appariés mais séparés l'un de l'autre. Les brins se séparent donc l'un de l'autre, mais sur une courte distance d'environ 17 paires de bases.

Lorsque l'ARN polymérase se fixe sur le promoteur, elle forme un complexe. Ce complexe est d'abord fermé (les deux brins sont encore appariés), puis il s'ouvre (les deux brins se séparent). Ce passage du complexe fermé au complexe ouvert est un événement essentiel dans la transcription.

4. Bulle de transcription : synthèse des chaînes d'ARN

La chaîne d'ARN commence par trois phosphates associés à une molécule de *guanine* ou à une molécule d'*adénine* (désignées respectivement par pppG ou pppA) (fig. 10.20).

La chaîne d'ARN est synthétisée dans la direction 5' \rightarrow 3' : la région 5' est donc caractérisée par la présence soit de pppG, soit de pppA. La synthèse se fait en l'absence de toute amorce.

La phase d'élongation de l'ARN commence par la formation d'une première liaison phosphodiester. La molécule perd sa sous-unité G.

La molécule d'ARN polymérase se lie plus fortement à la matrice. Elle reste liée à sa matrice d'ADN jusqu'à ce qu'elle atteigne un signal de terminaison. L'ARN polymérase, l'ADN et l'ARN naissant constituent la bulle de transcription. Le brin matriciel de l'ADN sélectionne les ribonucléotides corrects.

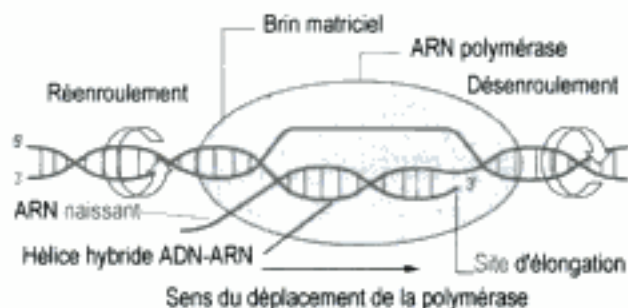


Fig. 10.20

Bulle de transcription.

Bulle de transcription et élongation de l'ARN qui forme une hélice hybride avec l'ADN partiellement déroulé.

L'ARN néoformé constitue avec l'ADN libre de l'œil de réplication une hélice hybride d'une longueur de 12 pb, c'est-à-dire un tour d'hélice d'ADN.

E. Transcription de l'ADN chez les eucaryotes

1. Différentes ARN polymérases

Chez les *eucaryotes*, trois ARN polymérases interviennent dans la synthèse de l'ARN. Il s'agit de :

- l'*ARN polymérase I* intranucléolaire transcrit les gènes des ARN ribosomiques 18 S, 5,8 S et 28 S ;
- l'*ARN polymérase II* qui synthétise les précurseurs des ARN messagers et des ARN de petite taille comme le *snRNA U1* de l'appareil d'épissage ;
- l'*ARN polymérase III* qui synthétise l'ARNr 5 S et toutes les molécules d'ARNt.

La lecture du brin parental ADN se fait dans le sens 3' → 5'. La synthèse s'effectue donc dans le sens 5' → 3' en fonction des indications données par le brin parental. La synthèse débute en l'absence d'amorce. Les ARN polymérases eucaryotes, comme les ARN polymérases procaryotes, sont dépourvues d'activité nucléasique. Les éventuelles erreurs qui peuvent survenir au cours de la synthèse de l'ARN ne sont donc pas corrigées.

2. ARN polymérase II

Cette ARN polymérase, qui synthétise les ARN messagers, possède des caractéristiques qui appartiennent aussi aux ARN polymérases des procaryotes : elles contiennent entre 8 et 12 sous-unités dont deux volumineuses sous-unités : RPB1 (220 kDa) et RPB2 (140 kDa). Ces sous-unités catalytiques sont identiques aux sous-unités α et β de l'ARN polymérase procaryote. Le domaine carboxyterminal de RPB1 est régulé par phosphorylation. Ce domaine reconnaît les signaux activateurs.

a. Promoteurs de l'ARN polymérase II

Ils sont localisés sur le côté 5' du site d'initiation de la transcription. Ce promoteur contient des séquences nucléotidiques particulières. L'une de celles-ci, la boîte TATA (*TATA box*) est située à -25 nucléotides du site d'initiation de l'ARN messager. La *TATA box* n'est pas suffisante pour déterminer une activité promotrice : elle est associée à d'autres éléments situés entre -40 et -110 nucléotides. Il s'agit de la *boîte CAAT* et de la *boîte GC*.

Seule, l'ARN polymérase II ne peut initier la transcription. Des facteurs de transcription désignés par le sigle TFI (Il fait référence à l'ARN polymérase II) accompagnent et guident l'ARN polymérase II jusqu'au site d'initiation. Au niveau du site d'initiation, il se forme un complexe, l'appareil basal de transcription (fig. 10.21). Cet appareil basal est constitué par les facteurs TFIIA, B, D, E associés à l'ARN polymérase II.

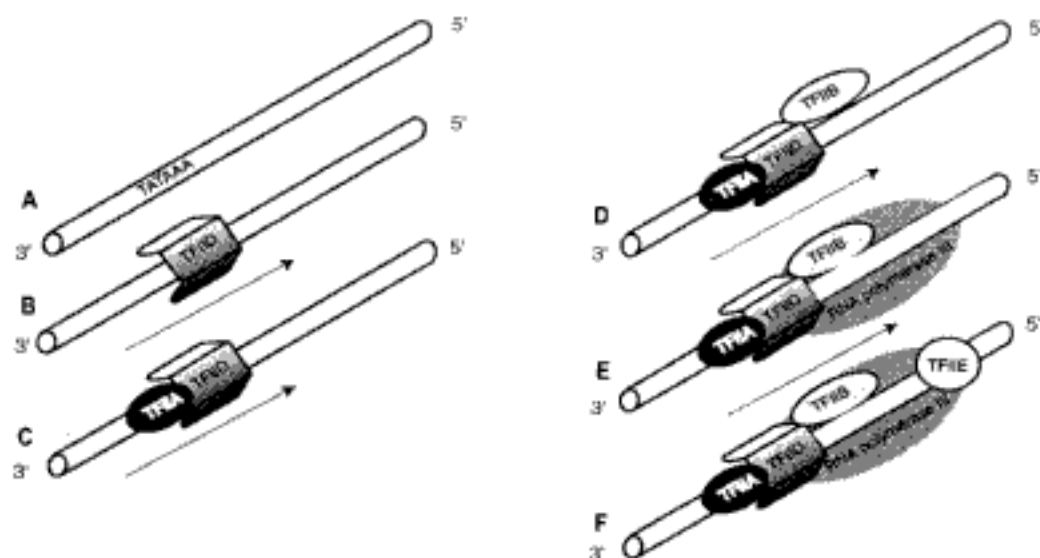


Fig. 10.21

Appareil basal de transcription.

A. La molécule d'ADN et la boîte TATA. **B.** Le facteur de transcription se fixe sur la boîte TATA. **C.** Le facteur TFIIA se combine au facteur TFIID. **D.** Le facteur TFIIB se combine au facteur TFIID. **E.** L'ARN polymérase s'associe au complexe protéique déjà formé. **F.** Le facteur TFII E s'associe pour finir de former l'appareil basal de transcription.

Ce complexe se forme de la manière suivante : TFIID se fixe en premier sur la *TATA box* par l'intermédiaire d'un de ses constituants, la protéine TBP. Elle a la forme d'une selle de cheval avec une face concave qui se lie à la boîte TATA, tandis que la face opposée convexe se lie aux facteurs de transcription. TFIIA et B rejoignent ensuite TFIID. Puis l'ARN polymérase et TFII E se fixent sur ces éléments.

Des facteurs supplémentaires s'assemblent sur l'appareil basal de transcription : il s'agit de protéines activatrices appartenant à des séquences stimulatrices situées parfois à distance de l'appareil basal de transcription. Mais l'ADN a la possibilité de se replier, de telle sorte que ces protéines activatrices (qui seules n'ont aucune activité promotrice) viennent interagir avec TFIID.

► Élongation

L'ARN polymérase II se déplace le long de l'ADN en ouvrant une partie de la molécule d'ADN par un mécanisme de déroulement de l'hélice. Un des deux brins ainsi exposés sert de matrice : il est lu dans le sens 3' → 5'.

L'élongation de la molécule d'ARN se fait par l'appariement des bases complémentaires et par l'addition successive de ribonucléosides 5'-triphosphates (adénosine 5'-triphosphate, cytidine 5'-triphosphate [CTP], guanosine 5'-triphosphate, uridine 5'-triphosphate [UTP]). Une chaîne d'ARN se forme et s'allonge dans le sens 5' → 3'.

b. Arrêt de la transcription

L'ARN polymérase II continue son chemin bien au-delà du nucléotide où aura lieu la polyadénylation (le mécanisme de l'arrêt de transcription est mal connu : les polymérases finissent par se décrocher, en des sites différents pour un même gène, au niveau de structures en épingle à cheveu). Le long transcrit primaire ainsi formé est clivé en un point précis, une vingtaine de bases en aval d'un site AAUAAA, le signal de clivage. Une poly (A) polymérase ajoute immédiatement de 100 à 250 A (selon l'organisme considéré) à cette extrémité 3'. L'ADN se rembobine immédiatement après lecture.

3. Visualisation en microscopie électronique de la transcription

Les gènes en cours de transcription peuvent être observés après extraction associée à une coloration négative, ou après un marquage autohisto-radiographique. La transcription d'une fibre nucléosomique est réalisée par une multitude de molécules d'ARN polymérases (transcriptases) qui, les unes après les autres, commencent la lecture du gène.

La longueur des molécules d'ARN est proportionnelle à la distance de leur point de départ : c'est la raison pour laquelle un gène lu par plusieurs ARN polymérases a un aspect « d'arbre de Noël » ou de « fronde de fougère ». Les images les plus caractéristiques concernent la transcription de l'ARNr (fig. 10.22).

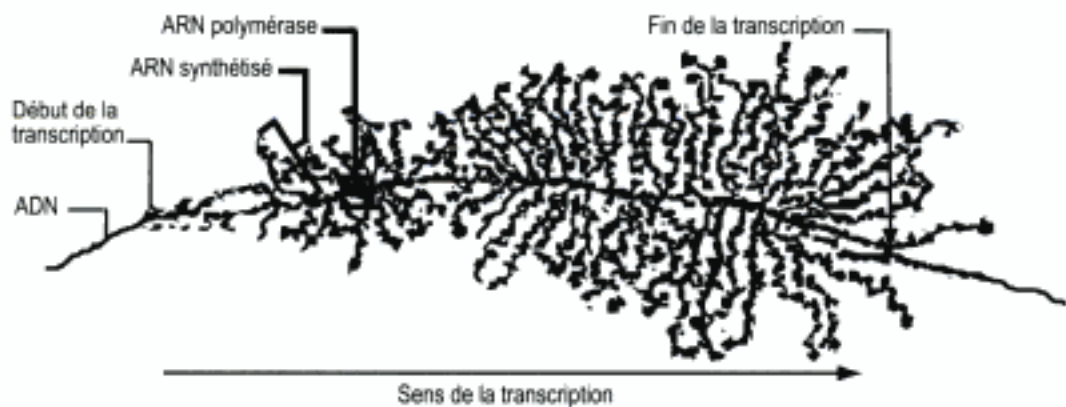


Fig. 10.22

Unité de transcription.

Chaque molécule d'ARN polymérase porte une molécule d'ARN primitif (transcrit primitif).

a. Portion du génome transcrite

Chez l'Homme, moins de 10 % du génome sont informationnels. Il s'agit des exons des gènes codant les protéines (gènes de classe II), des gènes ribosomaux (gènes de classe I, qui sont répétés et rassemblés en batterie sur cinq des chromosomes où ils constituent les NOR : *Nuclear Organizing Centers* ; centres d'organisation nucléaire) et les gènes des ARNt et d'autres petits ARN (gènes de classe III).

Le reste est composé par :

- des introns (transcrits eux aussi mais épissés qui occupent en moyenne cinq à dix fois plus de place que les exons dans les gènes de classe II) ;

- plusieurs types de séquences hautement répétées non transcrites (ADN satellite, dont une partie est regroupée au niveau des centromères et des télomères des chromosomes) ou moyennement répétées (séquences Alu et LINE-1, dispersées dans tout le génome humain) et transcrites lorsqu'elles sont incluses dans un intron par exemple.

La partie du génome n'appartenant à aucune de ces catégories, sans caractéristique de séquence apparente et de fonction inconnue, est parfois nommé *ADN espaceur*.

b. Modifications des nucléosomes

L'ARN polymérase individualise la fibre d'ADN à tous les niveaux du brin en hélice autour des nucléosomes et les nucléosomes n'entravent pas la transcription. Il se produirait plusieurs modifications du filament nucléosomique : les octamères se séparent en tétramères d'histones en donnant un filament appelé héminucléosome ; chaque héminucléosome est entouré d'une spire d'ADN. Une acétylation des histones précède la transcription. Les protéines acides interviendraient dans la structuration fonctionnelle du nucléofilament, permettant l'expression des gènes programmés pour chaque type cellulaire.

c. Régulation de la transcription

Les facteurs de transcription contrôlent la transcription en se fixant spécifiquement (le plus souvent sous forme de dimères) sur les séquences régulatrices de l'ADN, répresseurs (*silencers*) ou amplificateurs (*enhancers*). Ces facteurs de transcription intracellulaires sont activés par des signaux extracellulaires.

Les facteurs de transcription et leur site de fixation sont différents pour chaque gène. La fixation des facteurs de transcription détermine la vitesse d'assemblage des protéines du complexe d'initiation sur le promoteur et, parfois, la vitesse d'élongation.

Les régions de contrôle sont souvent, chez les mammifères, extrêmement complexes. Elles peuvent intéresser une étendue d'ADN comprenant 50 000 paires de bases et cinq ou six facteurs de transcription, comme c'est le cas pour la régulation du gène de la 13-globine dans les cellules de la lignée érythrocytaire.

► Séquences régulatrices et facteurs de transcription

Les séquences régulatrices (amplificateurs et répresseurs), qui contrôlent l'activité du promoteur, se localisent en amont ou en aval du gène (fig. 10.23).

Ces séquences nucléosidiques sont reconnues par les facteurs de transcription. Par exemple, le *premier facteur de transcription* découvert est un *répresseur bactérien* désigné par l'abréviation *Lac* (pour lactose). Cette protéine reconnaît la séquence AATTGTGAGCGGATAACAATT de la région régulatrice et empêche la production de protéines intervenant dans le métabolisme du lactose dans un milieu ne contenant pas de lactose.

Ces protéines régulatrices forment, avec d'autres protéines, des complexes stables dans le cytosol. Les hormones stéroïdes et thyroïdiennes, pour ne citer qu'un exemple, possèdent un *récepteur cytoplasmique*. Ce récepteur est un facteur de transcription qui est activé par fixation des hormones stéroïdiennes ou thyroïdiennes. Ces hormones

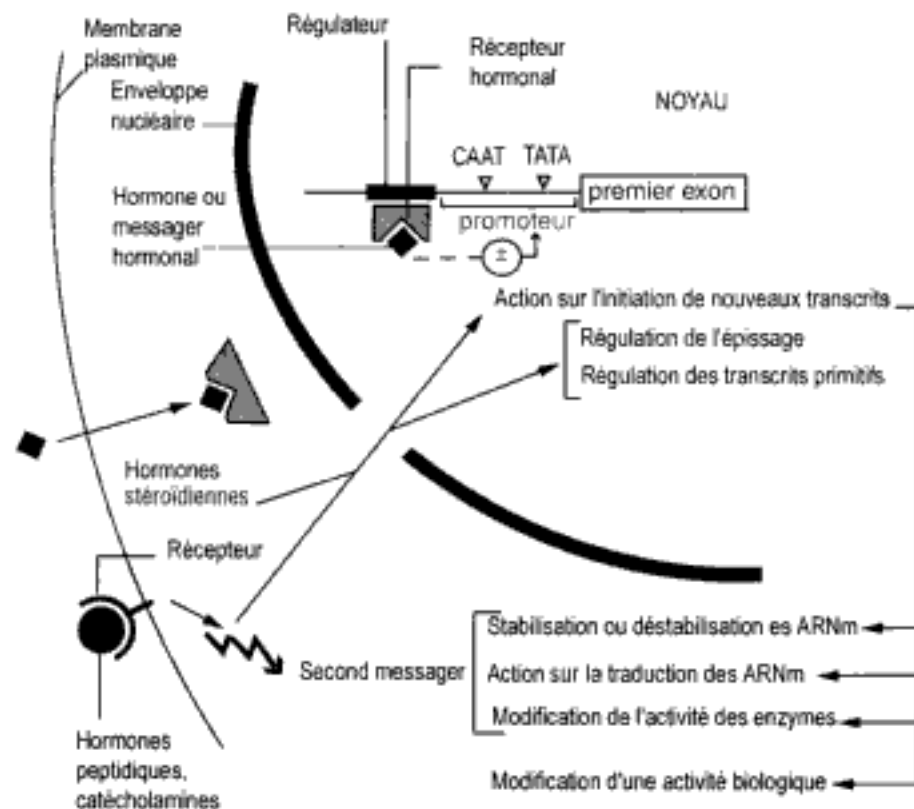


Fig. 10.23

Gène.

Un exemple de régulation : la régulation hormonale (d'après A. Kahn : M/S 1990). Le premier exon du gène est précédé par la boîte TATA et la boîte CAAT (éléments consensus) séparés par des répétitions très riches en GC (guanine-cytosine) qui jouent un rôle fondamental dans le fonctionnement et la fixation de l'ARN polymérase.

pénètrent dans le cytoplasme, se combinent avec leur récepteur qui migre vers le noyau. Le complexe hormone/récepteur se fixe sur une séquence régulatrice située en amont du gène. Sa liaison provoque une activation de la transcription.

En revanche, les *hormones peptidiques*, facteurs de croissance et catécholamines ont des *récepteurs membranaires*. Leur fixation sur ce récepteur déclenche la transduction d'un signal qui aboutit en général à l'*activation* des facteurs de transcription par *phosphorylation* ; par exemple :

- la phosphorylation de CREB (*Cyclic AMP Responsive Element Binding protein* ; protéine de liaison de l'élément sensible à l'AMPc) par la PKA (activée par l'AMPc produit en réponse à de nombreux stimuli hormonaux) : CREB se fixe alors sur le site CRE (*Cyclic AMP Responsive Element* ; élément sensible à l'AMPc) des promoteurs des gènes cibles ;
- la phosphorylation de la sérine des membres de la famille API (jun, fos, fra, etc.) après activation de la voie ras et MAP-kinase par les récepteurs à activité tyrosine kinase de certains facteurs de croissance ;
- la phosphorylation de la tyrosine par la kinase JAK et la translocation dans le noyau des facteurs de transcription STAT en réponse à l'activation des récepteurs aux cytokines.

► Domaines d'interaction avec l'ADN des facteurs de transcription

Les facteurs de transcription se fixent sur le grand sillon, qui leur donne un accès facile aux quatre paires de bases. Ils peuvent ainsi reconnaître les séquences des régions régulatrices et s'y fixer sans que l'ouverture de la molécule d'ADN soit nécessaire.

Les facteurs de transcription se classent en :

- protéines à motif hélice-tour-hélice : ce motif est constitué par une hélice de reconnaissance qui porte des chaînes latérales d'acides aminés dirigés vers l'ADN (elles pénètrent dans le grand sillon de l'ADN et se fixent sur les bases de la région régulatrice), une chaîne d'acides aminés généralement courte, dénommée tour, et une deuxième hélice qui forme un angle précis avec l'hélice de reconnaissance ;
- protéines à motif à doigt de zinc : elles sont constituées d'éléments répétitifs en forme de doigts de gant ; chaque élément répétitif porte un motif constitué par une hélice α et un feuillet réunis par le zinc ; la partie de la chaîne peptidique repliée en forme de doigts contient un atome de zinc relié à deux cystéines et à deux histidines. Elles peuvent contenir jusqu'à 13 doigts ; les séquences d'acides aminés de ces protéines reconnaissent les séquences nucléosidiques des régions régulatrices ; ces doigts, au niveau du grand sillon, établissent des contacts, par exemple entre les facteurs de transcription TFIIIA et les séquences régulatrices qui interviennent dans la synthèse de l'ARNr 5 S ;
- protéines à Leu zipper (« fermeture éclair à leucine ») ou motif à répétition de leucines : il s'agit de protéines qui se fixent sur l'ADN sous la forme de dimères ; elles sont formées de deux régions : une région Leu zipper, constituée par deux molécules hélicoïdales reliées en plusieurs points par des liaisons hydrophobes (ce qui évoque une fermeture éclair : zipper), qui sont des résidus de la leucine (Leu), et une région hélicoïdale basique, indispensable et nécessaire pour la liaison à l'ADN. Ces molécules dimériques ont la forme d'un « Y ». Les branches des molécules leucine zipper se placent de part et d'autre de la molécule d'ADN dans le grand sillon, permettant aux chaînes latérales d'acides aminés de se fixer sur la séquence nucléotidique de la région régulatrice.

► Amplificateurs

Les amplificateurs sont des séquences d'ADN toujours situées à distance (plusieurs kb de distance) du promoteur, sur lesquelles la fixation de facteurs de transcription provoque l'augmentation du nombre de molécules d'ARN transcrites.

Lorsque le facteur de transcription se fixe sur le site d'amplification, la partie de la molécule d'ADN, qui sépare l'amplificateur du promoteur, forme une boucle (cette déformation est ATP-dépendante) de telle sorte que le facteur de transcription porté par l'ADN établit des contacts répétés avec le complexe de transcription qui est associé au promoteur. La multiplicité de ces contacts a le même effet qu'une augmentation de concentration des facteurs de transcription au voisinage du promoteur.

► Répresseurs

Les répresseurs (*silencers*) sont des séquences d'ADN sur lesquelles la fixation des facteurs de transcription provoque l'inhibition de la transcription. La répression de la transcription se fait aussi selon d'autres modalités :

- par masquage de la surface d'activation par une protéine inhibitrice qui empêche le facteur de transcription activateur de se fixer sur la séquence régulatrice de l'ADN ;

- par interaction avec le complexe de transcription : une protéine inhibitrice se combine directement avec les cofacteurs généraux de l'ARN polymérase (complexes TF) et inhibe leur assemblage ;
- par inhibition par compétition : les protéines activatrices et inhibitrices, destinées à se fixer sur la même séquence régulatrice de l'ADN, entrent en compétition ; le facteur de transcription répresseur, en se fixant sur cette séquence, empêche la fixation du facteur de transcription activateur ;
- par fixation sur deux séquences symétriques d'ADN : le facteur de transcription répresseur, par exemple une protéine HLH (*Helix-Loop-Helix* ; hélice-boucle-hélice), en se fixant sur deux séquences symétriques d'ADN, inhibe tout décodage.

4. Maturation du transcrit primaire

La maturation de l'ARN est un ensemble de mécanismes qui transforme le transcrit primaire (ou ARN pré-messager) en sa forme définitive, l'ARN messager (fig. 10.24).

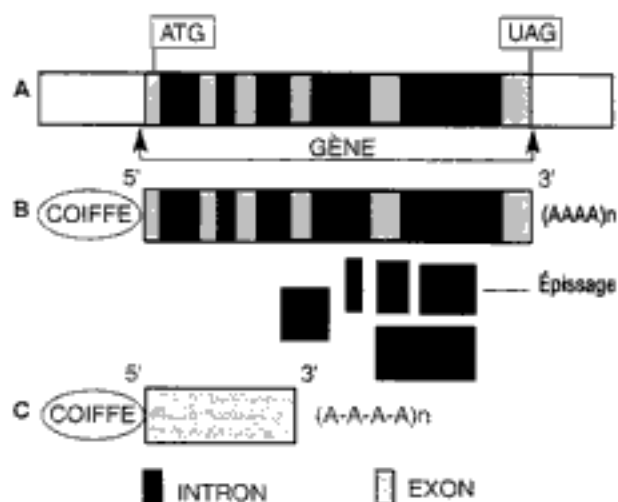


Fig. 10.24
Maturation du transcrit primaire.

- A.** Gène à transcrire.
B. Une coiffe est accrochée en 5' à l'ARN néosynthétisé. Une queue poly A est accrochée en 3'. Ce pré-ARN est épissé (des snRNP interviennent dans l'épissage). Les introns sont éliminés.
C. Libération de la coiffe.

Avant de devenir fonctionnel, l'ARN néoformé (transcrit primaire) doit subir une phase de maturation caractérisée par :

- le coiffage : le coiffage ou *capping* recouvre l'extrémité 5' du transcrit d'un acide guanylique méthylé sur un azote en position 7 ;
- la polyadénylation de l'extrémité 3' : une coupure nucléolytique sectionne le transcrit primaire en un point où seront ajoutés environ 200 résidus adényliques ; le rôle de cette queue polyadénylée est mal connu ; les ARNm-histones (ARNm qui transportent les informations pour la synthèse des histones) et les snRNA (*small nuclear RNA* ; petits acides ribonucléiques nucléaires) ne sont pas polyadénylés ;
- l'épissage : le transcrit primaire contient des introns et des exons ; les introns sont éliminés par épissage au cours de la maturation de l'ARN. En raison de la présence des introns, dont certains sont très grands, la gamme des tailles des transcrits primaires est très étendue (entre 2 et 30 kb), d'où le nom hnRNA (*heterogeneous nuclear RNA* ; ARN nucléaire hétérogène) qui les désigne.

a. Définition de l'épissage

L'épissage est l'enlèvement précis des introns des transcrits primaires par excision, qui met en œuvre un complexe de haut poids moléculaire, le spliceosome, formé par 50 protéines différentes et 5 snRNP (*small nuclear Ribonucleoproteins* ou snurps ; petites ribonucléoprotéines nucléaires).

Les séquences d'ARNm exoniques, situées de part et d'autre des introns, sont ressoudées ou épissées (le verbe « espisser », à l'origine de épisser, dérive du néerlandais *splisten* ou de l'allemand *splessen* qui a donné *splice* en anglais, d'après *Le Robert électronique*). Le terme d'épissage (un néologisme) est utilisé pour décrire l'ensemble de ce mécanisme (excision et soudure). L'épissage se déroule en plusieurs étapes, de telle sorte qu'il existe plusieurs transcrits intermédiaires avant que ne soit formé l'ARN mature ou fonctionnel.

b. Spliceosome

Les spliceosomes sont des structures constituées par des snRNP et par une cinquantaine de facteurs protéiques non snurps, qui éliminent les introns au cours de la maturation de l'ARNm.

Les composants du spliceosome occupent 20 à 50 régions proches des sites de transcription, qui apparaissent sous la forme de taches lorsqu'ils sont mis en évidence par les techniques d'immunocytochimie. On observe aussi, lors de ces expériences, un marquage diffus du nucléoplasme (à l'exclusion du nucléole). Les taches (ou *speckles*) correspondent à des zones de stockage ou de maturation des composants du spliceosome, tandis que le marquage diffus, colocalisé avec les fibrilles périchromatiniennes observées en ME (voir plus loin), révèle le site effectif de l'épissage des transcrits primaires naissants.

Les snRNP sont de petites particules nucléaires ribonucléoprotéiques qui contiennent de courtes molécules d'ARN (200 nucléotides). La fraction ARN des snRNP, ou snRNA, se forme dans le nucléole.

Un spliceosome se forme sur chaque intron de telle manière que les extrémités 3' et 5' de l'intron sont rapprochées au sein d'un site catalytique : ces deux extrémités sont coupées, les exons se soudent l'un à l'autre et l'intron est éliminé.

c. Rôle des protéines SR

Les protéines SR (*Serine arginine Rich* ; riches en sérine et en arginine) interviennent dans le recrutement des snRNP sur l'intron et participent donc à la formation du spliceosome.

Les protéines SR contiennent un domaine riche en dipeptides arginine/sérine, responsable des interactions des protéines SR entre elles et entre protéines SR et snRNP, et un ou deux domaines RBD (*RNA-Binding Domain* ; domaine de liaison avec l'ARN) d'interaction avec l'ARN pré-messager.

► Rôle des protéines des hnRNP

Les protéines des hnRNP (*heterogeneous nuclear Ribonucleoproteins* ; ribonucléoprotéines nucléaires hétérogènes) constituent des particules qui empaquettent les transcrits au fur et à mesure de leur croissance. Ces particules se formeraient au niveau des jonctions intron/exon. Cette

abondante famille de protéines protégerait le transcrit primaire de la dégradation et favoriserait la formation des spliceosomes sur les exons en aidant à la reconnaissance des sites d'épissage.

Dans certains cas d'épissage alternatif, c'est-à-dire lorsque plusieurs sites d'épissage 3' ou plusieurs sites d'épissage 5' sont potentiellement reconnus par le spliceosome, les protéines des hnRNPs peuvent réprimer l'épissage à tel ou tel site alternatif, en entrant en compétition avec des protéines SR ou la grande sous-unité de U2AF (U2AF65) (U2AF : U2 Auxiliary Factor ; facteur auxiliaire de U2).

d. Régulations post-transcriptionnelles

Après la transcription, chacune des étapes qui conduisent de l'ADN à la protéine surveille le résultat de la transcription grâce à un contrôle :

- de l'épissage ;
- de l'édition ;
- du transport de l'ARNm : l'ARNm doit être transporté depuis le noyau jusqu'au cytoplasme, grâce à l'intervention de divers mécanismes et en particulier son passage par les pores ;
- de la traduction (par le choix des ARNm qui seront traduits) ;
- de la dégradation de certains ARNm ;
- de l'activité des protéines synthétisées. Un excès d'une protéine définie interrompt, par un mécanisme de rétroaction (*feedback*), la transcription du gène responsable de la synthèse de cette protéine.

► Édition

L'édition d'ARN est un mécanisme post-transcriptionnel qui englobe un ensemble de modifications de l'ARN (ARNm, t ou r).

Les ARNm (fig. 10.25) peuvent subir une addition post-transcriptionnelle ou une délétion d'uracile pour constituer des codons de début ou d'arrêt de lecture et ajouter des séquences supplémentaires de codification.

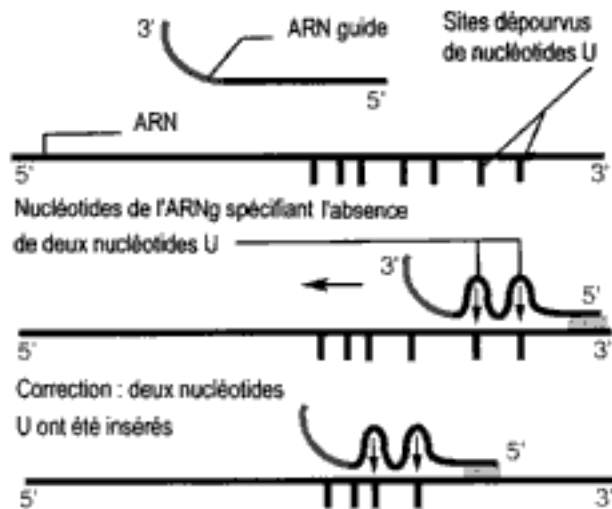


Fig. 10.25

Un exemple d'édition de l'ARN.

Les ARNg possèdent en 3' une queue polyU. Cette queue fournit les uraciles aux sites de mésappariement avec l'ARNg qui signalent l'absence de U. La correction nécessite plusieurs ARN guides.

L'édition varie d'un ARNm à l'autre. Dans certains cas, l'adjonction ou la délétion se limitent à quelques molécules d'uracile ; dans d'autres, l'édition participe à la formation de plus de 50 % de la molécule d'ARN.

L'édition nécessite l'intervention d'ARNg (*ARN guides*) ; ce sont des transcrits, en général courts (50 à 70 nucléotides) qui interviennent directement dans l'édition de l'ARNm. Les ARNg possèdent à leur extrémité 3' un segment poly-U.

L'édition commence par la fixation d'une séquence d'ancrage d'un ARNg près de l'extrémité 3' de l'ARNm : l'ARNg s'apparie avec une séquence complémentaire de l'ARNm, à l'exception d'une zone où manque l'uracile. Le repérage des régions où l'uracile est absent permet à l'ARNg de combler cette absence. Les nucléotides U à l'extrémité 3' de l'ARN guide sont transférés directement dans l'ARNm grâce à un mécanisme complexe. Le mésappariement très localisé activerait les endonucléases : ces endonucléases clivent la molécule d'ARNm située en face de la région de l'ARNg qui ne contient pas de base complémentaire de l'ARNm et les nucléotides manquants sont insérés dans la molécule d'ARNm. ARNg se raccourcit progressivement avec la progression de l'édition.

L'achèvement de l'édition par le premier ARNg crée un site d'ancrage, qui permet la fixation d'un second ARNg et ainsi de suite.

► Régulation globale du transfert des ARNm vers le cytoplasme

Seule une fraction des ARN synthétisés dans le noyau atteint le cytoplasme. Il s'effectue donc un tri intranucléaire soit par dégradation de l'ARN, soit par blocage de son passage dans les pores.

Le transport des ARNm aboutit à une localisation adaptée, spécifique, en fonction de la protéine qu'il code, grâce à un signal localisé dans la région 3' UTR. Ce signal permet à l'ARNm d'atteindre les régions du cytoplasme où sa traduction est nécessaire. Il délivre ainsi les protéines « à domicile ». Il s'agit d'une forme particulière de régulation post-transcriptionnelle.

► Régulation globale du taux de traduction

La phosphorylation de eIF-2 (*eucaryotic Initiation Factor 2* ; facteur d'initiation 2) et celle de eEF-2 (*eucaryotic Elongation Factor 2* ; facteur d'élongation 2) réduit l'activité de la traduction. La phosphorylation de eIF-2 est corrélée, au cours du cycle cellulaire, à l'entrée des cellules dans la phase quiescente G0 (voir « Phase G0 », p. 320), au cours de laquelle les synthèses protéiques sont réduites à 20 % de celles des cellules en prolifération. Une diminution temporaire du taux de synthèse protéique est aussi observée lors de l'entrée en mitose : elle est corrélée à la phosphorylation de eEF-2.

► Contrôle négatif de la traduction

La fixation de protéines répressives de la traduction sur l'extrémité 5' de l'ARNm inhibe sa traduction. L'aconitase bloque la traduction de l'ARNm codant la ferritine (ARNm ferrique). La ferritine est une protéine qui assure le stockage du fer. L'augmentation de la concentration ferrique du cytoplasme détache l'aconitase de l'ARNm codant la ferritine et augmente d'une manière considérable la production de ferritine.

► Rôle de la queue poly (A)

Les *pré-ARNm*, polyadénylés dans le noyau, qui, après maturation, passent dans le cytoplasme, possèdent des queues poly (A) d'environ 200 nucléotides. Une longueur minimum de 30 nucléotides assure non seulement la stabilité des ARNm, mais aussi leur traduction. Les protéines de

fixation, qui se lie à l'extrémité poly (A) de l'ARNm, fixent la grande sous-unité des ribosomes. La petite sous-unité s'accroche à l'extrémité 5'. Or, la forme de la molécule d'ARNm, à ce moment-là, est telle, que les deux extrémités sont voisines et que les deux sous-unités ribosomales peuvent s'associer pour commencer la lecture de la molécule dans le sens 5' → 3'.

► Dégradation des ARNm

Les ARNm sont instables. Leur durée de vie chez les vertébrés est d'une trentaine de minutes à dix heures. Les ARNm les plus instables contiennent des séquences qui stimulent leur autodestruction par des endonucléases.

Cette dégradation sélective des ARNm est souvent couplée à leur traduction. Ce couplage traduction/dégradation est un mécanisme qui évite que les ARNm ne soient dégradés avant qu'ils n'aient été traduits au moins une fois. Par exemple, les ARNm codant pour les histones portent des signaux proches de la région 3', qui activeraient une nucléase liée au ribosome. La lyse de l'ARNm ne se produit alors qu'après la fin de la synthèse.

POINTS CLÉS

- L'ARN, toujours monocaténaire, contient les mêmes constituants que l'ADN, à l'exception du désoxyribose et de la thymine qui sont respectivement remplacés par le ribose et l'uracile. Chaque ARNm est la copie des exons d'un gène fonctionnel. Les ARNt reconnaissent les acides aminés. Les ARN proviennent de la transcription de l'ADN par les ARN polymérases I, II, III. Ces transcriptases reconnaissent le promoteur d'un des deux brins, qui est lu dans le sens 3' → 5'.
- Plusieurs ARN polymérases lisent simultanément un gène (image en arbre de Noël). Les facteurs de transcription contrôlent l'activité du promoteur, sans ouvrir la molécule d'ADN, en se fixant sur les séquences régulatrices par l'intermédiaire du grand sillon.
- Les transcrits primaires subissent un épissage au sein des spliceosomes qui éliminent les introns. Des régulations post-transcriptionnelles peuvent s'exercer sur l'épissage, l'édition, le transport de l'ARN, le degré de polyadénylation, la dégradation de l'ARNm.

VI. L'enveloppe nucléaire (fig. 10.26)

A. Définition

L'enveloppe nucléaire, caractéristique des cellules eucaryotes, est une structure constituée par une *membrane externe* en relation avec le cytoplasme, un *espace périnucléaire* et une *membrane interne* en relation avec la lamina qui appartiennent à une citerne du RE qui communique avec les autres éléments du RE.

C'est une barrière entre les compartiments nucléaire et cytoplasmique douée d'une perméabilité sélective. Elle limite un volume clos dont la constitution diffère fondamentalement du cytoplasme : elle isole l'ADN uniquement pendant la *période interphasique*, permet sa *réplication* ou sa *transcription* dans un compartiment séparé du cytoplasme, *contrôle les échanges* dans les deux sens entre le noyau et le cytoplasme grâce aux pores nucléaires. Elle garantit la *maturité complète des ARNm* qui seront traduits en protéines par les ribosomes. Elle est impliquée non seulement dans les *échanges nucléocytoplasmiques*, mais aussi dans l'*organisation*

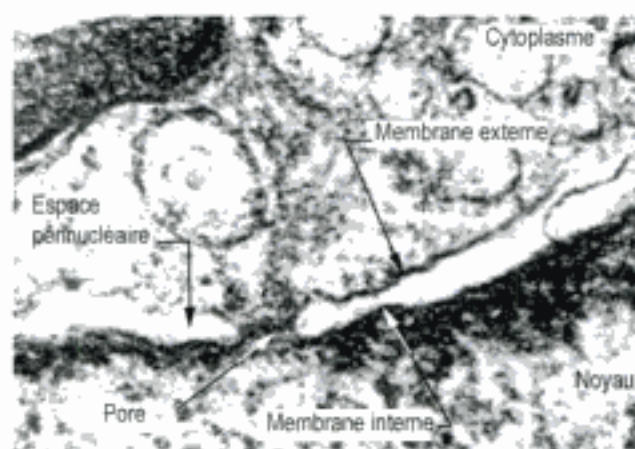


Fig. 10.26

Enveloppe nucléaire en MET.

du contenu nucléaire, dans le maintien de la *forme du noyau* et la *croissance du noyau*.

L'épaisseur totale de l'enveloppe nucléaire est approximativement de 35 nm.

B. Membrane externe

La membrane externe, d'une épaisseur totale de 7,5 nm, est trilamellaire. Des *ribosomes* s'accrochent sur la face externe de cette membrane qui est en continuité avec le *RE*, lequel occupe l'ensemble du cytoplasme (fig. 10.27).

Elle est en rapport avec la *corbeille périnucléaire* constituée par des *filaments intermédiaires* qui jouent un rôle de *soutien mécanique* en association avec la *lamina* (voir « *La lamina nucléaire* »). Elle contient 70 % de protéines et 30 % de lipides.

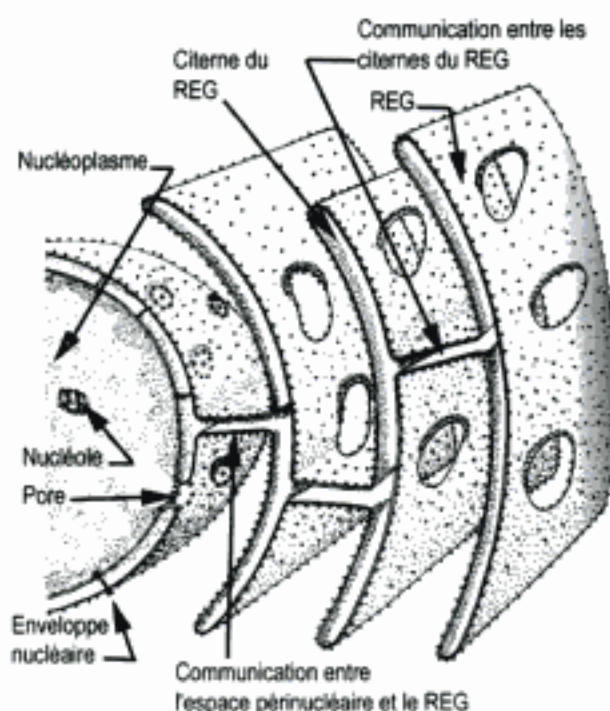


Fig. 10.27

Représentation schématisée de l'enveloppe nucléaire et de ses rapports avec le réticulum endoplasmique.

La membrane externe contient une *glucose-6-phosphatase*, deux chaînes de transport d'électrons (*cytochrome b5*, *cytochrome P450*) non couplées à un mécanisme de phosphorylation. Les enzymes et les cytochromes (transporteurs d'électrons) sont très enchâssés dans la double couche lipidique, tandis que la *glucose-6-phosphatase* et les glycoprotéines se placent au voisinage de l'espace périnucléaire. De plus, comme dans toutes les membranes du RE, la membrane externe nucléaire renferme des récepteurs (IP3R) des molécules d'Ins 1,4,5-P3 (inositol 1,4,5-triphosphate).

C. Espace périnucléaire

L'espace périnucléaire, lieu de stockage des ions calcium, situé entre les deux membranes, a une épaisseur irrégulière (10 à 30 nm). Cette zone vectrice communique avec les cavités du RE.

D. Membrane interne

La membrane interne a une structure et une épaisseur voisine de la membrane externe. Cependant, ses activités enzymatiques sont moins riches que celles de la membrane externe. Elle contient des *canaux calciques* transmembranaires. La fixation de leur ligand *Ins 1,4,5-P3* (produit au cours du cycle phospho-inoside qui se déroule dans le noyau) libère des ions calciques contenus dans l'espace périnucléaire : ces ions sont déversés dans le nucléoplasme. De nombreuses enzymes nucléaires requièrent, en effet, la présence de Ca^{++} . Cependant, la majorité du calcium pénètre dans le nucléoplasme en passant par les pores nucléaires. Elle contient également des protéines intramembranaires qui sont des récepteurs des lamines : la *protéine 58 kDa* (récepteur de la lamine B), *LAP1* et *LAP2* (*Lamina Associated Proteins* ; protéines associées à la lamina). La face interne de la membrane interne est en rapport avec la lamina nucléaire.

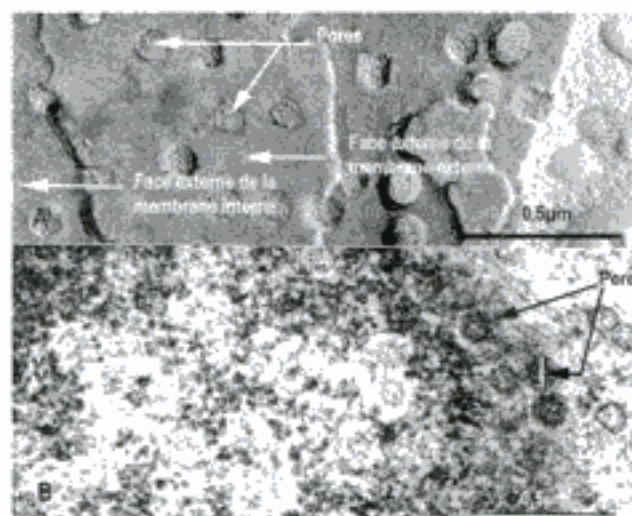
E. Complexes de pores nucléaires (fig. 10.28)

1. Définition

Le complexe de pore nucléaire (*Nuclear Pore Complex NPC*) ou « canal de la membrane nucléaire » est un volumineux ensemble de protéines chargées positivement, existant dans tous les noyaux, possédant une symétrie rotationnelle de l'ordre de 8 et un diamètre de 130 nm, qui relie les membranes nucléaires interne et externe, contrôle et assure dans les deux sens *tous les échanges* entre le noyau et le cytoplasme.

2. Dynamique

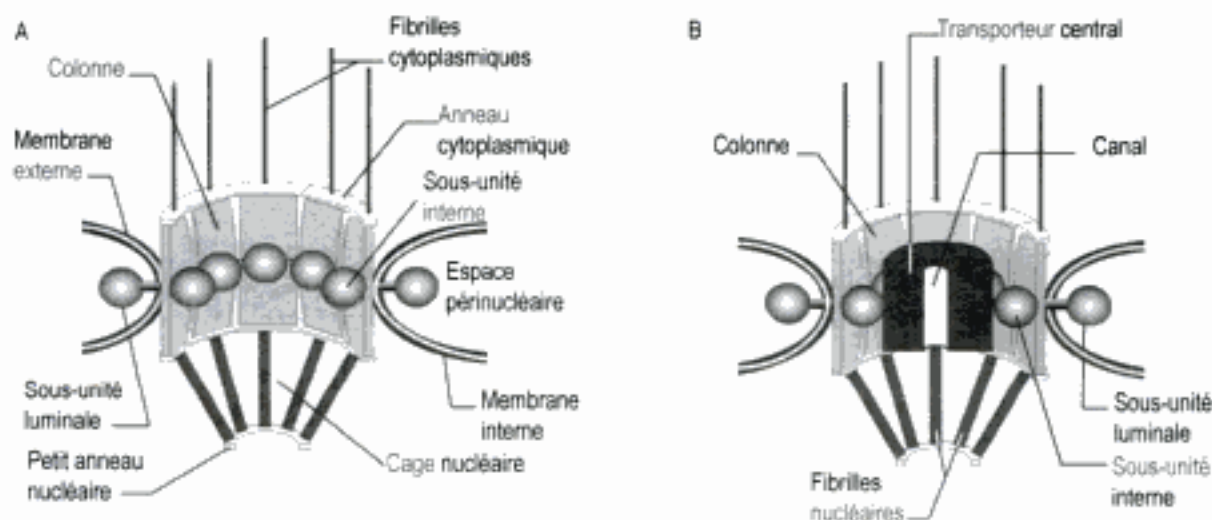
Les pores ne sont pas des structures statiques permanentes mais des *structures dynamiques*, susceptibles de disparaître plus ou moins complètement au cours de la mise au repos de la cellule ou de réapparaître lorsque les échanges sont augmentés entre le noyau et le cytoplasme.

**Fig. 10.28****Enveloppe nucléaire.****A.** Freezing etching.**B.** MET. Coupe tangentielle de l'enveloppe nucléaire.

3. Structure tridimensionnelle du NPC (fig. 10.29)

a. Définition

Le NPC est un assemblage tripartite comprenant un « *anneau luminal* » en forme de tonneau enchâssé dans l'enveloppe nucléaire et placé entre un *anneau cytoplasmique* et un *anneau nucléoplasmique*. Un complexe rayonné entoure le pore central occupé par le transporteur encore appelé « *complexe central du pore* ». Le NPC a la forme d'un anneau cylindrique dont l'*ouverture maximale* est de 25 nm et le diamètre externe de 130 nm. Il est enchâssé dans l'enveloppe nucléaire. Il déborde légèrement la surface de la membrane externe et de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire.

**Fig. 10.29****Représentation tridimensionnelle du NPC.**

A. Le transporteur n'est pas représenté afin de ne pas masquer les sous-unités du complexe rayonné. Le complexe rayonné est constitué par 8 groupes de 3 sous-unités : la sous-unité luminaire située dans l'espace périnucléaire, la colonne et la sous-unité interne qui vient au contact du transporteur.

B. Le NPC est représenté avec le transporteur qui est traversé par un canal d'environ 9 nm de diamètre.

b. Anneau cytoplasmique

L'anneau cytoplasmique est constitué de huit sous-unités (diamètre : 120 à 130 nm, hauteur : 25 nm, 32 MDa). Ces sous-unités sont disposées de manière symétrique par rapport à son centre. Sur la face cytoplasmique, huit *filaments cytoplasmiques* s'insèrent sur l'anneau : un par sous-unité. Ces filaments cytoplasmiques, d'aspect torsadé, ont une longueur de 30 à 50 nm : ils se perdent dans le cytoplasme. Cet anneau pourrait être en relation avec les éléments du cytosquelette de la corbeille périnucléaire, qui joueraient un rôle d'ancrage. L'anneau cytoplasmique contient diverses protéines, en particulier une *glycoprotéine gp210* et des protéines *pom* (*pore membrane protein* ; protéine de la membrane du pore).

c. Anneau nucléoplasmique ou nucléaire

L'anneau nucléoplasmique, amarré à la lamina nucléaire, a une structure voisine de l'anneau cytoplasmique (21 MDa). Il est constitué lui aussi de huit sous-unités protéiques. Sur la face nucléaire de chacune de ces sous-unités, s'insèrent des filaments nucléoplasmiques d'une longueur de 100 nm qui se terminent au contact d'un *petit anneau nucléoplasmique* d'un diamètre de 30 à 50 nm. L'ensemble filaments/petit anneau nucléoplasmique constitue une sorte de cage, le *panier nucléaire* ou le *panier fibreux*. Les molécules du réseau de la lamina pourraient s'ancrer sur cet anneau et jouer un rôle de soutien.

Le rôle des *groupes de filaments* serait d'amasser les macromolécules qui doivent être transportées à travers le pore.

d. Anneau luminal ou complexe rayonné

L'*anneau luminal* ou *complexe rayonné* (52 Mda) est placé entre les deux anneaux, l'anneau cytoplasmique et l'anneau nucléoplasmique qu'il réunit au transporteur central. L'anneau luminal est constitué par huit complexes protéiques formés chacun par l'association de *trois sous-unités*. La *sous-unité annulaire*, la plus interne, limite une ouverture circulaire de 25 nm de diamètre. La *sous-unité de la colonne*, en dehors de la sous-unité annulaire, entre au contact de la zone où la membrane externe de l'enveloppe nucléaire se poursuit par la membrane interne. Une *sous-unité luminale* (domaine luminal), la plus externe de chaque rayon, s'étend dans la lumière de l'espace périnucléaire. Le domaine interne se termine au contact du *complexe central* (transporteur ou bouchon central). Cet anneau luminal ménage une ouverture circulaire.

e. Complexe central ou bouchon du pore

Une volumineuse particule, appelée *complexe central du pore* ou transporteur, occupe le centre du complexe rayonné. Les *sous-unités annulaires*, les plus internes, entrent en contact avec le complexe central. Ce bouchon du pore serait traversé par un *canal* de 9 nm de diamètre et de 15 nm de longueur. Les fonctions de ce complexe central sont mal connues.

Le *bouchon central du pore* n'est pas constant. Sa signification est discutée : pour certains biologistes, il s'agirait de matériel en transit, pour d'autres, d'un artefact créé par un agrégat formé par les filaments du pore qui, au cours de la préparation, se seraient regroupés.

f. Canaux périphériques

Ils sont au nombre de huit, compris entre les filaments rayonnés (sous-unités internes) et les deux anneaux cytoplasmique et nucléoplasmique. Les ions et les petites molécules transiteraient par ces canaux.

4. Nucléoporines

Le PM d'un pore nucléaire est d'environ 125 MDa. Il comprend plus d'une cinquantaine de protéines : les *nucléoporines* en constituent le groupe le plus important. Elles sont caractérisées par la présence de séquences aminées répétées dont l'extrémité est toujours formée par la *phénylalanine* (F) et la *glycine* (G). On admet que ces séquences répétées se terminant par FG interagissent avec les substances qui traversent le pore. Quelques-unes sont des glycoprotéines constituées par une protéine dont les résidus sérine ou thréonine sont liés à une N-acétylglucosamine. La partie glycosylée est tournée vers le cytoplasme.

Ces *nucléoporines* jouent un rôle essentiel dans le transport des molécules à travers le pore nucléaire. Les *anticorps anti-nucléoporines* inhibent le transport.

Les nucléoporines p62 (p : protéine – 62 kDa), p54 et p58 forment dans le pore un complexe linéaire de 50 à 60 nm de long. Ce complexe est lié à la région centrale des deux versants du pore. En l'absence de p62, le pore n'assure aucun transport.

VII. Les échanges entre le noyau et le cytoplasme

Les échanges bidirectionnels entre le noyau et le cytoplasme sont assurés par les complexes de pore nucléaire. L'*importation* est le transport dans le sens cytoplasme → noyau, l'*exportation* est le transport dans le sens noyau → cytoplasme.

A. Activité des pores

Les pores contrôlent les transports nucléocytoplasmiques : cette activité est essentielle au fonctionnement cellulaire. Pour assembler 10 millions de ribosomes en 20 heures (le temps de doublement typique d'une cellule de mammifère proliférant rapidement), le noyau doit importer plus de 500 millions de protéines ribosomales, soit presque 10 000/s, par ses complexes de pores nucléaires. Le noyau exporte tous les éléments nécessaires à la synthèse protéique qui se déroule dans le cytoplasme (sous-unités ribosomales, ARNt, ARNm). En phase G1, immédiatement après la mitose, le noyau d'une cellule de mammifères exporte, en une journée, plus de 480 millions de molécules d'histones par jour. Si le nombre moyen de pores par noyau est de 3 000 à 4 000, chaque pore doit transporter approximativement 100 molécules par minute. Il importe toutes les protéines nécessaires aux fonctions du noyau : par exemple les protéines nécessaires à la formation des ribosomes par le nucléole.

1. Transports passifs

Les transports passifs n'entraînent pas de dépense d'énergie cellulaire. Les ions franchissent ainsi les pores nucléaires : la concentration en Na⁺ et K⁺ atteint, dans le noyau, le double de celle du cytoplasme qu'ils gagnent

par simple diffusion. Les petites molécules, d'un poids moléculaire *inférieur à 60 kDa*, entrent dans le noyau en empruntant la même voie que les ions. Il s'agit des acides aminés, des mono ou des disaccharides. Ces transports s'effectuent dans les deux sens, peut-être par les canaux latéraux pour les ions (tous les biologistes ne sont pas d'accord sur cette éventualité). La vitesse de passage est inversement proportionnelle à la dimension de la molécule : les petites molécules passent très rapidement (voir paragraphe précédent), en revanche les molécules de 20 kDa mettent 2 à 3 min, celles de 40 kDa 50 min pour franchir le pore.

Il existerait une voie de diffusion libre dans le complexe du pore qui pourrait être le canal central du bouchon du pore.

2. Transports actifs

Les transports actifs intéressent des molécules d'un PM supérieur à 60 kDa. Les mouvements de ces molécules (importation et exportation) à travers le pore ne dépendent pas du gradient de concentration. De nombreuses protéines cellulaires ou virales font la navette entre le cytoplasme et le noyau : il s'agit des hnRNP qui participent au transport de l'ARNm, de facteurs de transcription et des protéines Rev (*Regulation of expression of viral proteins* ; régulation de l'expression des protéines virales) des rétrovirus.

Mise en évidence de l'importation des protéines

► Les protéines nucléaires extraites d'une cellule puis réinjectées dans le cytosol sont retrouvées peu de temps après dans le nucléoplasme. Les protéines sont donc porteuses d'un signal qui indique leur localisation initiale. Ce signal est décrit sous le sigle NLS (*Nuclear Localization Signal* ; signal de localisation nucléaire). NLS n'existe que sur les protéines nucléaires.

► La voie d'exportation des protéines nucléaires vers le cytoplasme a été découverte grâce à l'étude d'un système viral, le VIH.

► Dans une cellule normale, seuls les ARN mûrs peuvent être exportés dans le cytoplasme. Or, les ARN du VIH sont immatures et ils sont nécessaires à la biosynthèse des protéines de l'enveloppe du virus. Afin que ces ARN puissent gagner le cytoplasme, le VIH code une protéine Rev qui, en interagissant avec une séquence RRE (*Rev Responsive Element* ; élément de réponse à Rev) contenue dans ses ARN incomplètement épissés, autorise leur exportation.

► Rev contient un signal d'exportation, NES, riche en leucine, responsable de l'adressage, à la machinerie de transport, des protéines vers le cytoplasme. Une protéine de la famille des importines, CRM1 (*Chromosome Maintenance Region 1* ; exportine 1), est le transporteur qui reconnaît le NES (*Nuclear Exportation Signal* ; signal d'exportation nucléaire) et adresse la protéine Rev et les ARN viraux au pore nucléaire.

► Des NES ont été trouvés par la suite dans plusieurs protéines cellulaires qui sont exportées vers le cytoplasme par cette voie CRM1-dépendante.

B. Système d'importation et d'exportation

Le passage des molécules volumineuses (par ex. sous-unités ribosomiques, ARN) qui traversent les complexes du pore nucléaire en direction du cytosol dépend des *signaux d'importation ou d'exportation nucléaire*, des *adaptateurs* et des *récepteurs*, de la protéine *Ran* (voir plus loin).

1. Signaux d'importation

Les signaux d'importation nucléaire NLS des *caryophérines* (importines α) sont de courtes séquences de *quatre à huit acides aminés basiques* portées par une protéine cytoplasmique à destination nucléaire. Elles sont toutes riches en *lysine* et en *arginine* et sont associées à la proline : mais, tout en étant riches en lysine et en arginine, ces *séquences basiques* ne sont pas les mêmes pour des protéines différentes. Ces séquences sont chargées positivement et localisées en un point quelconque de la protéine à condition qu'elles soient accessibles. Elles marquent constamment aussi bien les protéines cytoplasmiques à importer que les protéines nucléaires séjournant dans le noyau.

2. Signaux d'exportation nucléaire

Les signaux d'exportation nucléaire NES sont de courtes séquences d'acides aminés tout à fait semblables aux NLS. Cependant, des protéines comme celles associées aux ARNm possèdent un signal NES différent : il est riche en leucine.

Expérience démontrant l'existence des signaux NLS et de NES

► Importation nucléaire

► Un mutant de virus SV40 (*Simian Virus 40*) produit une forme anormale de protéine virale appelé « large T-antigène ». La forme sauvage de cette protéine est localisée dans le noyau des cellules infectées par le virus. Les formes mutées s'accumulent dans le cytoplasme. La mutation responsable de cette anomalie intéresse une séquence C-terminale constituée par les acides aminés suivants Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val.

► Cette séquence fut associée à une protéine cytosolique que ne gagne jamais le noyau. Or cette protéine fut directement transportée dans le noyau : cette séquence fonctionne donc comme un signal de localisation nucléaire.

► La nucléoplasmine est une chaperonne (découverte dans l'ovocyte des xénopes) contenue dans le nucléoplasme qui maintient les histones dans une structure spatiale permettant l'assemblage des histones et de l'ADN pour former des nucléosomes. Marquée avec une substance fluorescente, il est possible de la suivre dans des cellules en culture. Après injection dans le cytoplasme, elle est très rapidement retrouvée dans le noyau. Une nucléoplasmine, dont on a enlevé la séquence NLS, demeure dans le cytoplasme.

► Exportation nucléaire

► L'ovalbumine marquée avec une substance fluorescente est injectée dans le noyau : elle demeure dans le noyau. On conjugue l'ovalbumine avec le signal NES de la protéine Rev du virus du sida. Cette ovalbumine ainsi préparée est injectée dans le noyau. Elle est rapidement retrouvée dans le cytoplasme. La leptomycine B, un inhibiteur de l'activité du CRM1, bloque l'exportation de l'ovalbumine conjuguée au NES.

3. Signaux de rétention nucléaire

Le *signal de rétention nucléaire* est un troisième type de signal. Les *protéines NRS* sont des protéines qui empêchent les ARN immatures de sortir du noyau : elles sont éliminées avant l'exportation des ARN matures.

4. Adaptateurs

Un *adaptateur* est une protéine capable de reconnaître une protéine porteuse d'un *signal NLS* ou *NES* et de se combiner avec elle pour former un complexe cargo/adaptateur (le terme cargo désigne la protéine à transporter).

Nos connaissances actuelles sur les adaptateurs se limitent essentiellement à quelques protéines dont le mode de fonctionnement est connu. Il s'agit de l'importine α et de la protéine *A1* et de la *snurportine* (mot créé à partir de *snurp* ; *small ribonucléoprotéine*).

L'importine α reconnaît la séquence NLS des protéines à importer. La protéine *A1* de hnRNP intervient dans l'exportation des ARNm. La *snurportine* ajoute une coiffe triméthyl G à la snRNP pendant l'importation. Elle interagit aussi avec l'importine β au cours du transport nucléaire. Certains cargos peuvent se lier directement aux récepteurs d'importation et d'exportation sans l'intervention d'un adaptateur.

5. Récepteurs

Le *récepteur* est une protéine qui reconnaît le complexe cargo/adaptateur (ou dans certains cas simplement le cargo) et qui se combine avec lui pour former un complexe cargo-adaptateur-récepteur (ou pour former un complexe cargo-récepteur). C'est ce complexe qui franchira le pore nucléaire.

Les récepteurs les mieux connus appartiennent à la famille des *importines β* . Ils interviennent soit dans l'importation, soit dans l'exportation.

Ces récepteurs possèdent un site de liaison aux adaptateurs, un site de liaison à une protéine G monomérique, la protéine Ran (*Ras-related nuclear protein* ; protéine apparentée aux protéines Ras [superfamille des protéines ras]). Les récepteurs interagissent également avec les constituants du pore.

6. Protéine Ran

Une petite protéine monomérique G, la *GTPase Ran* (guanosine triphosphatase Ran) intervient dans le contrôle de la direction du transport. Elle existe en effet sous deux formes liées au GTP ou au GDP ; elle est distribuée de part et d'autre du pore :

- *Ran-GDP* : dans le cytoplasme, Ran, sous l'action de GAP, hydrolyse le GTP. Ran-GDP stabilise les complexes adaptateur/cargo. Ran-GDP est transportée par interaction avec NTF2 (*Nuclear Transport Factor*) ;
- *Ran-GTP* : dans le noyau, sous l'action du facteur d'échange de GEF, le GDP est remplacé par du GTP. Ran-GTP déstabilise les complexes adaptateur/cargo.

L'injection de Ran-GTP dans le cytoplasme inhibe l'importation dans le noyau des protéines caryophiles. L'injection de GAP associée à Ran dans le noyau inhibe l'exportation.

C. Importation des protéines caryophiles

1. Les protéines caryophiles

Toutes les protéines contenues dans le noyau sont synthétisées dans le cytoplasme. Elles sont importées en passant par les pores. Ces protéines

caryophiles ou nucléaires destinées au noyau sont des enzymes de la réplication ou de la transduction, des protéines des futures RNP, des complexes ligands/récepteurs hormonaux à transloquer, des facteurs de transcription, etc. Ces protéines portent toutes ce signal *NLS* d'adressage nucléaire, responsable de la sélectivité du transport nucléaire à travers les pores.

2. Mécanisme de l'importation

La protéine à signal *NLS* est le cargo à importer (fig. 10.30).

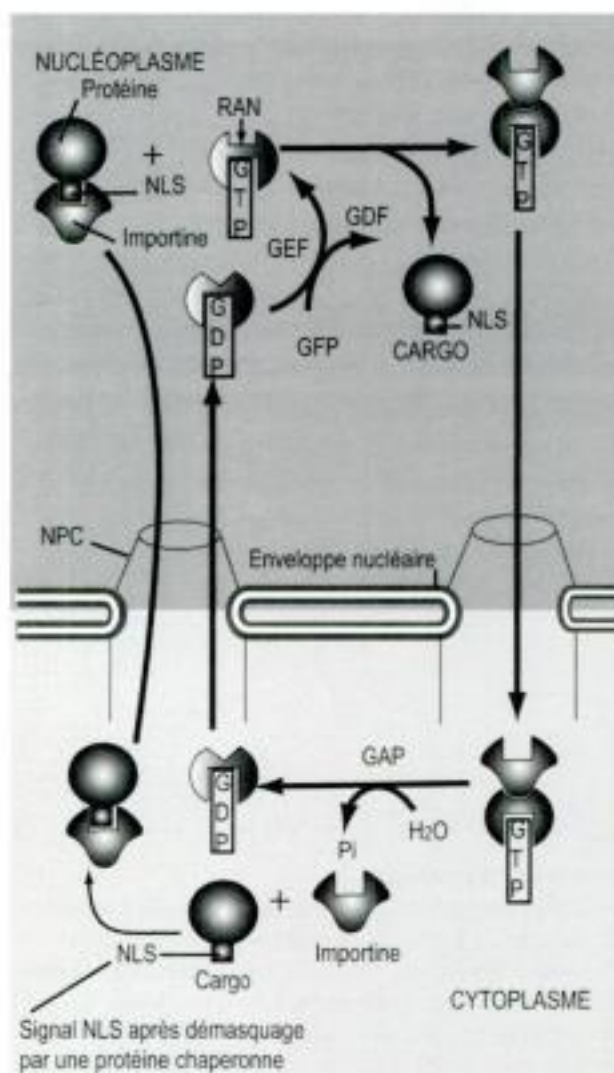


Fig. 10.30

Importation des protéines dans le noyau (schéma simplifié).

Ce schéma représente une « version simplifiée » de l'importation d'une protéine : par exemple, l'adaptateur et le récepteur de l'importine α et β ne sont pas représentés, de même que le démasquage par la protéine chaperonne du signal *NLS* (voir encadré). Dans le cytoplasme, l'importine libre se lie au signal *NLS* de la protéine cargo. Le cargo traverse le NPC par interactions successives avec les nucléoporines porteuses des séquences FG. Dans le nucléoplasme, Ran GTP interagit avec l'importine. Cette interaction provoque une modification conformationnelle de Ran qui libère la protéine cargo. Afin d'exécuter un autre cycle d'importation, le complexe Ran-GTP est transporté dans le cytoplasme. Une GAP associée aux filaments cytoplasmiques du NPC stimule l'hydrolyse de Ran-GTP : la protéine cargo est alors libérée de l'importine qui peut ainsi effectuer un autre cycle d'importation. Ran GTP se lie avec NTF2 (non représenté) et retourne dans le nucléoplasme où GEF provoque la libération de GDP et la liaison de GTP.

D. Exportation des protéines

L'exportine est un récepteur d'exportation nucléaire (fig. 10.31). Dans le noyau, elle forme un complexe avec Ran GTP et se lie avec la protéine cargo porteuse du signal NES. Ran GTP fait partie du complexe exporté dans le cytoplasme : ce qui n'est pas le cas au cours de l'importation.

1. Conditions de l'exportation des ARN

L'exportation nucléaire de la *quasi-totalité des ARN*, moins bien connue que l'importation des protéines caryophiles, est un mécanisme essentiel

Importation des protéines dans le noyau

► Le schéma de la figure 10.30 est très simplifié. En réalité, l'importine est un hétérodimère constitué par deux sous-unités α et β . La protéine cargo se combine à l'importine α . Le complexe cargo/importine α s'associe à l'importine β . L'importine libère son cargo dans le nucléoplasme et se dissocie en ses sous-unités α et β qui repassent séparément dans le nucléoplasme et peuvent assurer un autre transport.

► Dans le cytoplasme, après démasquage du signal NLS par des protéines chaperonnes Hsp, la protéine caryophile se lie à l'importine α par son NLS. Le domaine IBB (*Importin B Binding domain* ; domaine de liaison avec l'importine β) de l'importine α , situé près de l'extrémité carboxyterminale, interagit avec l'importine β : l'importine β se combine au complexe cargo/importine α . Le complexe cargo/importine en présence de Ran-GDP et de GAP est stabilisé, ce qui permet l'adressage au pore. Le complexe cargo/importine α /importine β se fixe sur l'anneau cytoplasmique sans dépense d'énergie, puis il traverse le pore nucléaire par interactions successives du récepteur, l'importine β , avec les nucléoporines. La translocation (traversée du canal du pore) est GTP-dépendante.

► Arrivé dans le noyau, GEF remplace GDP par GTP dans Ran-GDP : le complexe cargo/importine α /importine β désormais associé à Ran-GTP est déstabilisé. Le cargo est relargué dans le nucléoplasme. L'importine α et l'importine β se séparent l'une de l'autre et retournent séparément dans le cytoplasme.

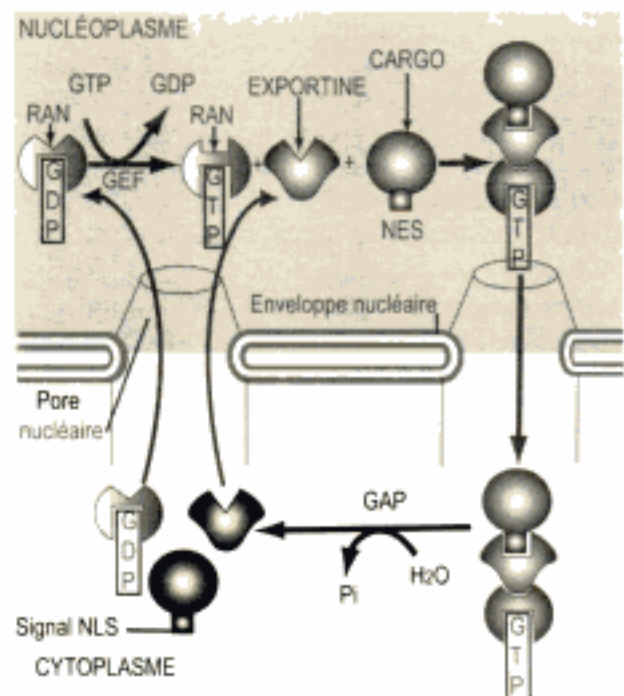


Fig. 10.31

Exportation des protéines.

L'exportine dans le noyau se lie avec la protéine cargo porteuse du signal NES et à Ran GTP ; le complexe exportine-protéine cargo-Ran GTP traverse le NPC grâce à un ensemble d'interactions des séquences de répétitions en tandem FG avec les nucléoporines porteuses de FG (phénylalanine-glycine). GAP associée aux filaments cytoplasmiques de NPC convertit Ran GTP en Ran GDP ; la modification conformationnelle de Ran permet la dissociation du complexe et la protéine cargo est libérée dans le

puisqu'il représente une *étape critique dans l'expression génique* des cellules eucaryotes. Le transport des *ARNm*, des *ARNr* et des *ARNt* est un transport actif, consommant de l'énergie, qui exige la fixation de la protéine Ran-GTP. Les molécules d'ARN ne sont exportées que lorsque la maturation est terminée : un *épissage incomplet* bloque la sortie de cet ARN du noyau (voir encadré). Une erreur de transcription bloque également l'exportation.

2. Voies de l'exportation des ARN

Plusieurs voies de transport, spécifiques de chaque classe d'ARN, sont décrites.

a. Exportation de l'ARNt

Les ARNt sont exportés par un transporteur spécifique, l'exportine-t. Cette molécule se lie à l'ARNt de manière à former un complexe avec Ran-GTP qui traverse NPC. Ce complexe se dissocie lorsque Ran-GTP interagit avec Ran-GAP au niveau des filaments cytoplasmiques du NPC et libère l'ARNt dans le cytosol.

b. Exportation de l'ARN 5 S

Dans les œufs de *Xenopus laevis*, l'exportation de l'ARN 5 S dépend de protéines possédant un NES semblable à celui de Rev. Deux protéines, les protéines *TPIII*A et *L5*, interviennent dans l'exportation.

c. Exportation des RNAsn

Un complexe protéique nucléaire CBC (*Cap-Binding protein Complex* ; complexe protéique se liant à la coiffe), comprenant deux protéines, CBP80 et CBP20, se lie à la coiffe des snRNA. Il est nécessaire à l'exportation de ces derniers dans le cytoplasme (où ils subiront leur maturation particulière). Le complexe CBC est ajouté cotranscriptionnellement à tous les transcrits de l'ARN polymérase II, comprenant l'ARNm et la plupart des snRNA.

3. Protéines à domaine M9

Cette voie concerne certaines des protéines des hnRNP, comme hnRNP A1, qui font la navette entre noyau et cytoplasme. Ces protéines possèdent une séquence signal, différente de NLS ou de NES, qui assure à elle seule le mouvement cyclique d'importation et d'exportation. Ce signal, dénommé M9, est constitué par un domaine de 38 acides aminés, riche en glycine et en résidus aromatiques. Il est reconnu par un récepteur cytoplasmique spécifique, la *transportine*. La translocation dans le noyau du complexe transportine-protéine à domaine M9 dépend également de la GTPase Ran. Le transporteur, qui assure le retour dans le cytoplasme des protéines « navettes » à domaine M9, distinct de la transportine, n'est pas identifié à l'heure actuelle.

4. Sous-unités ribosomales

Les sous-unités ribosomales sont également exportées par un mécanisme qui dépend de Ran. Elles sont exportées à travers les NPC. Quelques ARNm, en particulier ceux qui sont associés avec les protéines hnRNP, subissent une exportation dont le mécanisme est dépendant de Ran.

5. Exportation de l'ARNm

La coiffe 5' de l'ARNm méthylée les distingue des autres ARN. Pour être exportée, la coiffe 5' doit être normale : toute anomalie l'empêcherait de se combiner au complexe CBC qui facilite la maturation et l'exportation. L'ARNm néoformé est enveloppé par des protéines hnRNP et SR. La protéine *TAP* (*Transporter Associated Protein* ; protéine associée à un

transporteur) possède un signal d'exportation, forme un complexe avec l'ARNm et la protéine G monomérique Ran. Le signal d'exportation de TAP, distinct des NES riches en leucine, est pris en charge par le transporteur CRM1 (récepteur d'exportation nucléaire ou exportine).

L'ARNm, avec ses protéines accompagnatrices, se fixe par l'intermédiaire de sa coiffe sur l'anneau nucléaire, puis il engage son extrémité 5' dans le complexe central et traverse le pore : une fois dans le cytoplasme, il abandonne les protéines accompagnatrices, se combine avec des protéines uniquement cytoplasmiques et gagne les ribosomes.

E. Régulation des échanges

1. Masquage ou démasquage des séquences de localisation

NF- κ B (*Nuclear Factor- κ B* ; facteur nucléaire- κ B) est un facteur de transcription qui stimule la synthèse de la chaîne légère κ (kappa) des immunoglobulines des lymphocytes B en activant les gènes impliqués dans la réponse immunitaire et inflammatoire. Cette protéine eucaryote est située dans le cytoplasme : son importation est inhibée par I- κ B qui recouvre la séquence NLS. Lorsque l'inhibiteur I- κ B est libéré par un stimulus comme des liposaccharides bactériens ou des esters de phorbol, le signal est démasqué. NF- κ B est importé dans le noyau, déclenche la réaction inflammatoire tandis que I- κ B demeure dans le cytoplasme.

2. Modification du nombre de pores

La densité des pores nucléaires dans les hépatocytes de rat est d'environ 1 500 pores par μm^2 soit 4 000 par noyau. Dans les cellules entrant en phase S, le nombre de pores nucléaires augmente, ce qui démontre que cette densité est proportionnelle à l'activité transcriptionnelle nucléaire.

3. Signaux de rétention

Les NRS des RNP séquestrent les ARN immatures dans le noyau jusqu'à ce que leur maturation soit achevée.

4. Phosphorylation

Un mécanisme de phosphorylation contrôle l'importation de protéines au cours du cycle cellulaire ou en réponse à d'autres facteurs couplés à l'activation d'une protéine kinase spécifique. En effet, la régulation de l'importation d'un cargo dépend de la phosphorylation qui, réalisée à proximité d'un NLS, inhibe l'importation nucléaire.

POINTS CLÉS

- Les pores sont construits à partir d'une unité centrale en forme de disque, le complexe central du pore, placé en sandwich entre les anneaux nucléoplasmiques et cytoplasmique. Le NPC (côté nucléoplasmique) est attaché à la lamina et au panier fibreux. Huit fibres émanent de l'anneau cytoplasmique. Un granule central (inconstant), le transporteur, occupe l'axe du NPC.
- Les protéines à destination nucléaire sont porteuses du signal NLS et à destination cytoplasmique du signal NES ; leur progression dépend d'interaction de séquences répétées AG situées sur les filaments cytoplasmiques.

VIII. L'organisation du noyau

Les résultats obtenus par la microscopie électronique, par la microscopie confocale et les techniques d'immunofluorescence permettent d'affirmer que le noyau est divisé en un certain nombre de territoires : les territoires *chromosomiques* qui sont des régions nucléaires occupées chacune par l'ADN en double hélice d'un chromosome, et les territoires *interchromosomiques*. Ces derniers communiquent entre eux et constituent un réseau de canaux, le *domaine interchromosomique*, relativement peu volumineux. Enfin, il existe des *sous-territoires* ou sous-domaines qui regroupent les IGC (amas de granules de l'espace interchromatinien), les corps de Cajal (corps denses ou corps spiralés), les GEM (*Gemini of coiled body* ; gémeaux des corps spiralés), les corps nucléaires, PIKA (*Polymorphic Interphase Karyosomal Association* : association polymorphe contenue dans le noyau interphasique), les nucléoles.

A. Compartiment interchromatinien

Le noyau interphasique ne possède pas de membranes délimitant des compartiments. Cependant, outre le nucléole, l'étude des « espaces séparant l'hétérochromatine » a révélé depuis de nombreuses années une concentration de structures qui sont l'expression d'interactions dynamiques entre les structures chromatinienne et des protéines.

Ces espaces, regroupés sous le nom de compartiment interchromatinien, sont peu colorables par les colorants basiques ; leur organisation a été mise en évidence par les techniques histochimiques (fig. 10.32).

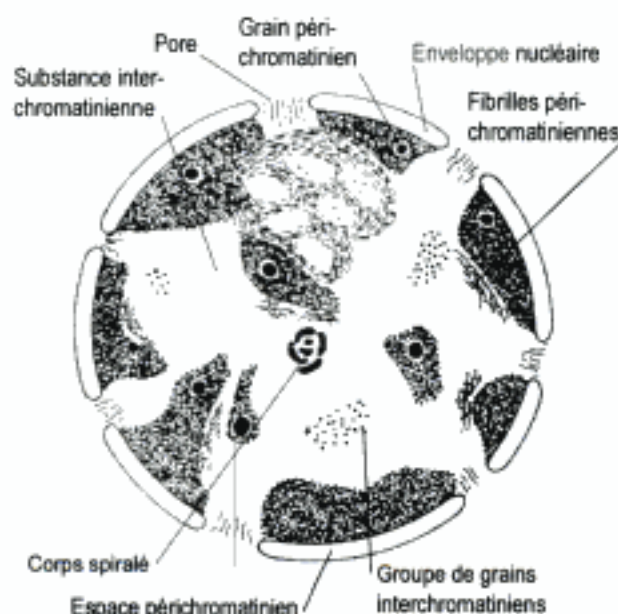


Fig. 10.32

Le compartiment interchromatinien.

1. Territoires chromosomiques

Les chromosomes occupent dans le noyau des territoires distincts. Cette répartition a été étudiée en microscopie confocale en utilisant des protéines obtenues en fusionnant des histones avec GFP. La chromatine n'occupe qu'une partie du noyau. La place non occupée par la chromatine

apparaît sous la forme de lacunes dont l'ensemble constitue le *compartiment interchromatinien*.

Le marquage des chromosomes au cours de la réplication de l'ADN montre bien que chaque chromosome occupe un territoire dont l'existence même implique le fait que la fibre nucléosomique ou chromatinienne est repliée soit sur elle-même, soit sur des protéines dont la nature n'est pas encore bien connue. Les chromosomes porteurs d'une plus grande quantité de chromatine inactive sont plutôt disposés à la périphérie du noyau où ils constituent la chromatine marginale, située au voisinage de la lamina.

Cette disposition des chromosomes est importante car elle permet ou ne permet pas l'expression des gènes. Les *gènes actifs* seraient disposés à la périphérie des territoires chromosomiques, donc accessibles, et les gènes inactifs au centre, c'est-à-dire dans un environnement pauvre en complexes permettant la transcription. Par exemple :

- un gène porté par le chromosome X inactif est localisé au centre du territoire occupé par ce chromosome (chez la femme, un des deux chromosomes est inactivé et apparaît sous la forme d'un corpuscule, le corpuscule de Barr, souvent localisé contre la face interne de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire) ;
- le gène codant pour le complexe majeur d'histocompatibilité est localisé sur une boucle de la fibre nucléosomique qui émerge du territoire chromosomique ; la fréquence de cette émergence est proportionnelle à l'activité du gène.

Les *gènes inactifs*, situés au centre des territoires, réapparaissent à la surface des territoires chromosomiques grâce au réarrangement de la chromatine induit par les activateurs des gènes : les activateurs décompactent la fibre nucléosomique et provoquent donc des remaniements importants de la chromatine.

2. Espaces interchromatiniens

Ils contiennent diverses molécules et en particulier des RNP. Les ARN, associés à des protéines, sont protégés contre les nucléases (enzymes nucléaires qui lysent les acides nucléiques). Les espaces interchromatiniens sont aussi occupés par certains segments des fibres chromatiniennes et diverses structures : les *fibrilles périchromatiniennes*, les groupes de *grains interchromatiniens*, les *grains périchromatiniens* et les *corps nucléaires*.

a. Fibrilles périchromatiniennes

► Structure

Les fibrilles périchromatiniennes sont groupées de manière à former des sites (il en existe 10 000 par noyau) à la périphérie de l'hétérochromatine. Elles occupent les espaces interchromosomiques (interchromatiniens). Leur diamètre est de 3,5 nm, leur longueur de 100 nm. Elles contiennent de l'*ARN polymérase II*, de la *poly (A) polymérase*, des *snRNP*.

► Fonction

Les fibres périchromatiniennes sont les *sites actifs de transcription* de l'ADN et d'épissage de l'ARN.

b. Groupes de granules interchromatiniens

Les études immunohistochimiques en MO des facteurs d'épissage ont identifié, dans le noyau, 20 à 50 petites taches très colorées (*speckles*) dans le noyau. Ces taches correspondent morphologiquement aux groupes de *grains interchromatiniens* étudiés en ME.

Ce sont des groupes qui rassemblent des particules de 20 à 25 nm de diamètre. Les groupes de granules interchromatiniens sont des compartiments de stockage et/ou d'assemblage des *snRNP* et *snoRNP*, molécules impliquées dans l'épissage de l'ARNm. Les *snRNP* sont synthétisées dans le cytoplasme à partir des molécules de *snRNA*. Les *snRNA* sont des molécules de petites dimensions (100 à 300 bases) qui, après leur synthèse dans les sites constitués par les fibres périchromatiniennes, gagnent le cytoplasme en passant par les pores nucléaires. Elles s'associent, dans le cytoplasme, à des protéines spécifiques sous forme de petites particules ribonucléoprotéiques, partiellement assemblées, appelées *snRNP* puis rentrent dans le noyau. Elles pénètrent dans les *corps de Cajal*, puis dans les *GEM* où elles subissent leurs ultimes modifications. Elles sont ensuite stockées dans les groupes de granules interchromatiniens. Elles interviennent dans l'épissage de l'ARN qui se déroule dans les sites constitués par les fibrilles périchromatiniennes voisines des grains interchromatiniens. Les *snRNP* et les *snoRNP* (*small nucleolar RNP* ; petites ribonucléoprotéines nucléolaires) sont recyclées par les corps de Cajal et les *GEM* (cycle contrôlé par des réactions de phosphorylation/déphosphorylation).

c. Grains périchromatiniens

Ils sont :

- plus rares que les granules interchromatiniens, mais plus gros (40 à 45 nm) ;
- entourés d'un halo clair de 25 nm d'épaisseur.

Localisés dans les espaces situés au voisinage des pores, entre les masses chromatiques, ils sont constitués de fibrilles très fines (3 nm), entortillées. Parfois, ces granules sont unis les uns aux autres par des faisceaux très fins de fibrilles. Ils contiennent eux aussi des composants du spliceosome (protéines SR) et des protéines des *hnRNP*. Leur nature est encore incertaine. Il pourrait s'agir de particules de *mRNP* (c'est-à-dire d'ARNm associé à des protéines, issu de la maturation des *hnRNP*) en transit vers le pore nucléaire. Le fait qu'ils contiennent des protéines des *hnRNP* et des protéines SR ne doit pas surprendre : certains membres de ces deux familles accompagnent les *ARNm matures* jusque dans le cytoplasme avant de retourner dans le noyau pour un nouveau cycle (voir p. 260). Ils représentent probablement le substrat morphologique d'acides ribonucléiques messagers.

d. Corps de Cajal (corps spiralés)

► Définition

Les corps de Cajal (*Coiled Bodies* : CB) sont des formations fibrillaires homogènes, sphériques, possédant un halo (de 0,3 à 1,5 µm de diamètre) qui contiennent des fibrilles très fines de 5 nm, irrégulièrement enroulées. Ces fibres sont colorables comme les granules inter et périchromatiniens.

► Constitution

Les corps spiralés contiennent la *fibrilarine* (une protéine spécifique du nucléole, de 34 kDa), des protéines associées aux organisateurs nucléolaires, un autoantigène humain, la *p80-coïline* (protéine de 80 kDa) dont on ignore la fonction, une *ADN topo-isomérase*.

Ils contiennent aussi des composants du *spliceosome*, tels que des particules snRNP et des facteurs d'épissage dont U2AF, composé de deux sous-unités, une protéine de 65 kDa (U2AF65) qui se lie à la zone polypyrimidique du pré-ARNm nécessaire à l'épissage *in vitro*, et une protéine associée de 35 kDa (U2AF35).

► Fonction

En dépit de leur composition moléculaire, les corps spiralés ne sont cependant pas le lieu de l'épissage des pré-ARNm, qui est réalisé sur les fibrilles périchromatiniennes. Leur fonction ne peut être déduite de leur évolution au cours du cycle cellulaire : ils sont nombreux et très faciles à observer dans les cellules en phase de croissance (phase G1), ils se dispersent lors de l'arrêt de la transcription et de l'épissage. Cependant, ils peuvent s'associer à des gènes qui codent pour des snRNA U. Les corps de Cajal réguleraient les gènes des snRNA, mais cela n'est qu'une hypothèse.

B. Matrice nucléaire

1. Définition

La matrice nucléaire (ou nucléosquelette) est l'ensemble du matériel insoluble qui persiste après toute une série d'extractions biochimiques, traitement par des détergents, par des solutions tampon, par la désoxyribonucléase (Dnase) ; elle constitue une charpente composée par un grand nombre de protéines. Elle s'étend dans la totalité du noyau et également dans le nucléole. Elle joue un rôle d'échafaudage dans la disposition et l'organisation des chromosomes dans le noyau, la disposition des gènes mais aussi un rôle d'*ancrage* pour des mécanismes aussi divers que la réplication de l'ADN, la transcription des ARN et leur maturation.

L'expérience suivante confirme ce rôle d'ancrage. Des cellules sont placées dans un milieu de culture contenant pendant un court laps de temps des précurseurs marqués de l'ARN ou de l'ADN : les ARN et les ADN synthétisés marqués, donc nouvellement synthétisés, sont associés aux éléments de la matrice nucléaire.

2. Constitution moléculaire

Il est difficile de connaître avec précision les constituants de la matrice nucléaire car les techniques utilisées sont des techniques de digestion ou de solubilisation dont l'efficacité inégale varie en fonction des substances utilisées : elles laissent plus ou moins de matériel insoluble qui est alors considéré comme faisant partie de la matrice nucléaire.

Lorsque les techniques utilisées ne sont pas trop drastiques, des séquences d'ADN, après extraction, demeurent liées à ce réseau : cela a permis d'émettre l'hypothèse que la *matrice nucléaire* joue un rôle dans l'*organisation des fibres nucléosomiques*.

On estime que la matrice nucléaire est constituée par :

- la *lamina nucléaire* et les lamines nucléoplasmiques dispersées dans le noyau ;
- des *protéines kinases* associées aux lamines de la lamina et en particulier la protéine kinase C (PKC) ;
- des *protéines fibrillaires* disposées en un réseau situé sous la lamina nucléaire et associé au petit anneau nucléoplasmique des pores nucléaires ;
- la *protéine NUMA* (236 kDa) (*Nuclear Mitotic Apparatus* ; appareil mitotique nucléaire), une protéine monomérique associée au domaine péri-centrosomal du fuseau mitotique qui, au cours de la mitose, se distribue dans chacune des cellules filles ; elle joue un rôle dans la coordination de la mitose. Le monomère NUMA possède deux têtes globulaires séparées par une hélice de 1 500 acides aminés. Sa structure est superposable à celle des filaments intermédiaires. L'absence du domaine globulaire inhibe la cytodierèse et provoque l'assemblage de multiples petits noyaux (micronucléi). Elle possède la propriété de ponter les microtubules : elle interagit avec la dynéine pour concentrer les MT aux pôles du fuseau mitotique. La *protéine NUMA* existe également dans le noyau au cours de la phase G1 (voir chapitre 12, p. 307). Les pentamères de NUMA participent à la constitution d'un *deuxième réseau fibreux* situé en dedans du réseau précédemment cité : les constituants de ce deuxième réseau sont mal connus ;
- un *réseau fibreux* en rapport avec la face interne de la lamina et occupant la totalité du volume nucléaire, ainsi qu'un réseau granulaire de complexes multienzymatiques nécessaires à la transcription et à la réplication de l'ADN qui disparaît plus ou moins complètement après l'utilisation d'une extraction drastique ;
- les *protéines SMC* (SMC : *Structural Maintenance of Chromosome* ; maintien de la structure des chromosomes), molécules protéiques dimériques, allongées, articulées en leur centre et qui possèdent un domaine globulaire à chacune de leurs extrémités ; ce domaine se lie à l'ADN et hydrolyse l'ATP. Ces protéines SMC sont des protéines mécano-chimiques de la chromatine (protéines motrices de la chromatine) qui provoquent l'enroulement de la chromatine et qui permettent donc sa condensation. Elles sont un des composants importants des *condensines*. Les condensines constituent une famille de complexes protéiques volumineux : elles sont un composant structural des chromosomes mitotiques (une molécule de condensine pour 10 000 nucléotides). La condensation des chromosomes interphasiques se produit pendant la phase M du cycle cellulaire. Elles produisent un chromosome mitotique en utilisant l'énergie de l'hydrolyse libérée par l'ATP pour provoquer l'enroulement vers la droite de chaque chromosome en interphase. Cette condensation est liée à la progression du cycle cellulaire ;
- des *microfilaments d'actine* et une *myosine* ; il n'existe pas de microtubules dans le noyau des cellules des mammifères ;
- des *boîtes HMG*, séquences spécifiques constituées par 75 résidus aminés ; elles existent au nombre de deux dans les protéines HMG : elles sont extrêmement mobiles au cours d'une électrophorèse. Les *protéines HMG* sont des protéines nucléaires impliquées vraisemblablement dans la *stabilisation de la matrice nucléaire* ainsi que dans la pro-

tection de l'ADN simple brin. Les boîtes HMG permettent des interactions entre les protéines HMG et l'ADN nucléaire ;

- des *topo-isomérases* ; ce constituant le plus abondant de la matrice est une enzyme prévenant d'éventuelles altérations qui sont la conséquence du superenroulement de la molécule d'ADN en aval de la zone de réplication. La topo-isomérase coupe temporairement un des brins de la molécule d'ADN dans cette région : l'ADN se déroule. Puis, la topo-isomérase réunit les deux extrémités des brins. Cette enzyme sépare les molécules d'ADN qui s'emmêlent au cours de la réplication. La topo-isomérase s'associe à un complexe protéique qui ancre les domaines en boucle des chromosomes sur la matrice ;
- des *agrégats de lamine* se formant dans le nucléoplasme ; au cours de la phase G1, les agrégats de lamine A prédominent et au cours de la phase S, ce sont les agrégats de lamine C qui sont les plus nombreux. La localisation des agrégats A et C est différente. Les agrégats de lamine C sont colocalisés avec les sites de réplication. Il semblerait que ces structures particulières interviennent dans la transcription de l'ARN et la réplication de l'ADN ;
- la *protéine GEF* qui active Ran-GDP en échangeant GDP contre GTP.

3. Organisation de la matrice nucléaire

La matrice nucléaire comprend la *lamina nucléaire* à disposition périphérique, contre la face interne de l'enveloppe nucléaire et le *nucléosquelette interne* qui occupe la totalité du noyau.

a. Lamina nucléaire

► Définition

La lamina nucléaire est une structure protéique constituée par des protéines fibrillaires, les lamines nucléaires qui font partie de la famille des filaments intermédiaires et qui se répartissent soit en une couche protéique fibrillaire dense accolée à la face interne de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire, la lamina nucléaire, soit en un réseau très discret dans le nucléoplasme.

► Lamines

Chez les mammifères, il existe trois protéines, les lamines A, B, C (*dimères* qui possèdent une région en forme de bâtonnet et deux têtes globulaires). Ces lamines A, B, C (PM compris entre 60 et 80 kDa) sont des dimères apparentés aux filaments intermédiaires. La *lamine A* et la *lamine C* résultent de l'épissage alternatif du même pré-ARNm tandis que la *lamine B* est codée par des gènes différents.

Le domaine central du monomère est constitué par une hélice alpha portant à chaque extrémité un domaine globulaire d'une taille différente. L'extrémité aminée est plus petite que l'extrémité carboxyle. Des *sites P* (sites de phosphorylation), qui contrôlent la dispersion de ces molécules au cours des divisions cellulaires, sont localisées au voisinage de l'extrémité aminoterminal. À l'extrémité carboxyterminale, cette molécule est porteuse :

- d'une *boîte* CA₁A₂X (la boîte CA₁A₂X est une séquence constituée par la cystéine [C], un acide aminé aliphatique [A₁], une leucine ou une isoleu-

cine ou une leucine [A_2], et une méthionine ou une sérine [X]) ; c'est un signal de fixation du *groupement farnésyle* ;

- et d'une *séquence NLS* (signal de localisation nucléaire). Cette boîte et le groupement farnésyle sont des *modifications post-traductionnelles*.

Ces dimères ont la propriété de s'associer les uns avec les autres pour former des filaments dont le diamètre est analogue à celui des filaments intermédiaires cytoplasmiques. Les *lamines A* et *C* existent dans les *cellules différenciées*, les *lamines B* dans les *cellules indifférenciées*.

► Disposition

Les filaments de lamine s'organisent *en treillis à mailles carrées* pour constituer la *lamina nucléaire sous-membranaire* (fig. 10.33).

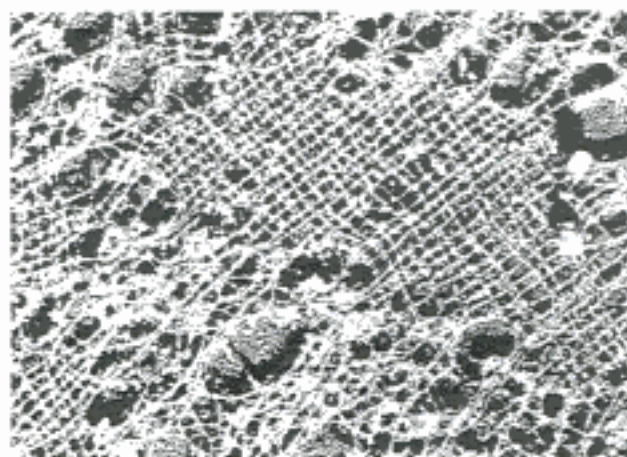


Fig. 10.33

Microscopie électronique de la lamina.

Coupe parallèle à la face interne de la membrane interne.

L'épaisseur de la lamina nucléaire varie, suivant les espèces, entre 15 et 60 nm ; elle se confond parfois avec la couche d'hétérochromatine périphérique. Elle est formée par des fibres épaisses, enroulées autour de canaux en forme d'entonnoirs dirigés vers les pores. Ces canaux pourraient desservir plusieurs pores. À distance du pore, le diamètre du canal est compris entre 120 et 640 nm ; à son voisinage, il est de 25 nm.

Les techniques d'immunofluorescence ont permis de localiser les lamines dans le nucléoplasme.

Les techniques d'immunofluorescence permettent d'étudier la localisation de la lamine A après injection dans le cytoplasme de cellules en culture. L'utilisation d'anticorps antilamine A marqué par une substance fluorescente montre que la lamine est localisée dans le nucléoplasme et sous l'enveloppe nucléaire.

► Désassemblage des lamines

Lorsque la cellule se divise, une *phosphorylation des résidus sérine* des lamines provoque un désassemblage de la lamina nucléaire en tétramères de lamines. Des invaginations de l'enveloppe nucléaire se forment. Elles sont provoquées par des microtubules qui, en s'allongeant, repoussent l'enveloppe nucléaire. Ces invaginations provoquent un étirement de la lamina qui se rompt par place en même temps que l'enveloppe nucléaire. Les protéines de l'enveloppe nucléaire se dispersent, se deta-

chent des chromosomes et migrent vers le réticulum endoplasmique. Ces mouvements dépendent de la dynéine.

► Association de la lamina avec l'enveloppe nucléaire

Deux protéines single-pass, les LAP1 et LAP2 (*Lamine Associated Polypeptide* ; polypeptide associée à la lamina) et la LBR/p56 (*Lamine B Récepteur* ; récepteur de la lamine B), une protéine multipass, assurent la *liaison lamine – membrane interne* de l'enveloppe nucléaire ; la fixation de la lamine B est facilitée par une addition post-traductionnelle de lipide (*prénylation des résidus cystéine* de l'extrémité C-terminale) (voir chapitre 3, « Protéines périphériques » : paragraphes « Protéines périphériques ancrées dans la face cytosolique » et « Protéines à ancre isoprénylée »).

► Liaisons avec l'ADN

L'ADN se lierait avec la *lamina* par une extrémité monocaténaire de l'ADN après avoir traversé le deuxième réseau sous-membranaire. Il se lierait également à la lamina par les LAP1 et 2 et la LBR/p56. De plus, l'ADN s'associe aux fibres de la matrice situées dans le nucléoplasme par des séquences de l'ADN chromosomiques, dénommées SAR (*Scaffold Associated Region* ; région associée au squelette) ou MAR (*Matrix-Associated Region* ; région associée à la matrice), situées au *sommet des boucles des chromosomes* (fig. 10.34).

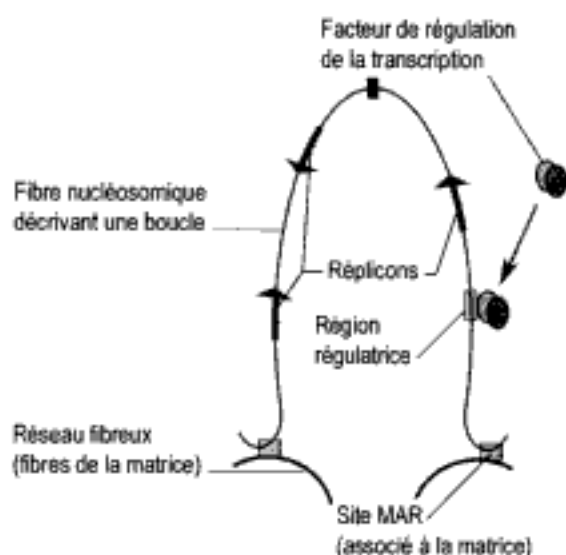


Fig. 10.34
Rapport des fibres nucléosomiques avec la matrice.

Ces séquences S/MAR appartiennent à des régions non codées de l'ADN, des espaceurs, comprenant 300 à 1 000 pb très riches en thymine et en adénine. Elles peuvent se fixer sur l'ADN *topo-isomérase II*, un des constituants de la matrice, et sur l'*histone H1*.

Ces S/MAR contraignent l'ADN à former des boucles et donc interviennent dans une augmentation du compactage qui est alors d'un facteur 250.

► Fonction de la lamina

La lamina intervient dans l'organisation structurale nucléaire : elle donne sa *forme à l'enveloppe* nucléaire et maintient sa structure. Elle fournit une

phase d'ancrage aux chromosomes en interagissant avec la chromatine qui interagit elle-même avec les protéines intramembranaires de la membrane nucléaire interne. Le récepteur 58 kDa de la lamine B intervient dans la *fixation de la chromatine* : l'histone H1 de l'hétérochromatine interagirait avec ce récepteur.

La lamina nucléaire intervient dans la *mitose* : au cours de la prométaphase, la *rupture de l'enveloppe nucléaire* se produit lorsque la lamina nucléaire accolée à la face interne de la membrane interne est phosphorylée par M-Cdk, une kinase cycline-dépendante qui phosphoryle les résidus sérine des lamines. À la fin de l'anaphase, l'*enveloppe nucléaire* commence à se reformer en s'assemblant à la surface des chromosomes, au moment où les lamines déphosphorylées se fixent sur les chromosomes.

Certaines *caspases*, au cours de l'*apoptose*, coupent les lamines nucléaires, provoquant ainsi une altération irréversible de la lamina et des modifications de la forme du noyau.

La lamina interviendrait aussi dans la *réplication des gènes*. C'est ce que suggèrent les interactions de la lamina avec la chromatine, avec les complexes de pore, avec les facteurs de transcription et avec l'ARN polymérase II.

► Laminopathies

Les mutations du gène LMNA (*Laminin A*) qui code pour les lamines A et C sont responsables de diverses maladies génétiques graves : la progeria (maladie du vieillissement prématuré), la maladie de Charcot-Marie (une maladie axonale), la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss et une lipodystrophie (maladie du tissu graisseux).

► Nucléosquelette interne

Le nucléosquelette interne est formé par un réseau de protéines fibreuses insolubles distribuées dans tout le volume nucléaire, et associé à un réseau globulaire. Il existe, à l'intérieur du noyau, des lamines qui ne sont pas limitées au réseau associé à la membrane interne : elles plongent dans le nucléoplasme. De plus, le nucléoplasme contient des MF d'actine et de la myosine. Le réseau fibrillaire ne jouerait qu'un rôle de support d'un deuxième réseau, d'aspect granulaire, qui contient les protéines globulaires intervenant dans les mécanismes de la transcription et de la duplication.

b. Contrôle de l'ADN par la matrice nucléaire

► Disposition des molécules d'ADN

Les molécules d'ADN ne sont pas disposées au hasard dans le noyau. L'étude des chromosomes du noyau interphasique montre que les centromères se placent au contact du nucléole ou des nucléoles, tandis que les télomères (extrémités des chromosomes) entrent en contact avec la périphérie du noyau et s'insèrent dans la lamina nucléaire.

La disposition en boucle des chromosomes dans le noyau interphasique semble être confirmée par l'étude de la distribution des S/MAR chez la drosophile. Sur un segment d'ADN constitué par 900 000 pb, 16 régions de l'ADN séparées par des espaces de 15 000 à 115 000 pb interagissent avec la matrice nucléaire.

► Déplacement de l'ADN au cours de la réplication et de la transcription

Les ARN polymérases sont fixées sur le réseau fibrillaire de la matrice (il en est de même pour les ADN polymérases) : elles restent donc immobiles au cours de la transcription. C'est la molécule d'ADN qui se déplace (voir « Réplication et matrice nucléaire », p. 239).

Ces sites de transcription sont au nombre de 20 à 50 : des sites d'épissage (voir « Maturation du transcrit primaire », p. 254) sont souvent localisés dans les mêmes régions.

Mise en évidence du rôle de la matrice dans la réplication

L'utilisation des techniques d'hybridation *in situ* avec fluorescence ont permis de localiser les pré-ARNm qui viennent d'être transcrits et de suivre leur évolution. Ils sont tout d'abord fixés à des constituants de la matrice nucléaire. Puis ils quittent le lieu de transcription pour gagner une région périphérique du noyau voisin d'un pore. Pendant ce déplacement, le pré-ARNm élimine les introns par épissage. Ce déplacement ne se fait pas au hasard, les mouvements sont limités pendant la maturation. Ils sont sous le contrôle de la matrice nucléaire.

POINTS CLÉS

- Le noyau est divisé en territoires chromosomiques qui sont des régions nucléaires occupées chacune par l'ADN : les domaines interchromosomiques ou interchromatiniens séparent ces territoires. Cette disposition des chromosomes permet ou ne permet pas l'expression des gènes. Les gènes actifs sont disposés à la périphérie des territoires chromosomiques et les gènes inactifs au centre.
- Les fibres périchromatiniennes sont les sites actifs de transcription de l'ADN et d'épissage de l'ARN.
- Les grains interchromatiniens sont des compartiments de stockage et/ou d'assemblage des snRNP et snoRNP, molécules impliquées dans l'épissage de l'ARNm.
- Les grains périchromatiniens représentent probablement le substrat morphologique d'acides ribonucléiques messagers. Les corps de Cajal réguleraient les gènes des snRNA mais cela n'est qu'une hypothèse.
- La matrice nucléaire joue un rôle d'échafaudage pour les chromosomes et également un rôle d'ancrage pour des mécanismes intervenant dans la réplication de l'ADN, la transcription des ARN et leur maturation. Elle est constituée par la lamina nucléaire, des protéines fibrillaires, des protéines NuMa, des protéines SMC qui entrent dans la composition des condensines (composants structuraux des chromosomes mitotiques), des topo-isomérases, des agrégats de lamine.

IX. Le nucléole

A. Définition

Le nucléole est un compartiment nucléaire, non limité par une membrane, responsable de la synthèse de trois des quatre acides ribonucléiques des ribosomes, présent dans le noyau au cours de la totalité des phases G1, S, G2 et disparaissant pendant la mitose. Sa fonction principale est la *biogenèse des ribosomes* (transcription et maturation de l'ARNr, assemblage de chacune des sous-unités qui demeurent séparées dans le nucléole), mais il intervient aussi dans la *biogenèse* de nombreux ARN

cellulaires transcrits dans le noyau, il joue un rôle important dans des mécanismes tels que le *contrôle du cycle cellulaire*, la *modulation de l'activité de p53* et le *contrôle de la méiose*.

B. Les constituants nucléolaires

Les nucléoles sont de volumineux agrégats de nombreuses macromolécules : ces constituants nucléolaires sont les *gènes des ARN ribosomiaux*, les *précurseurs des ARNr*, les *ARNr matures*, les *enzymes de maturation des ARNr*, les *snoARN*, les *snoRNP*, les *sous-unités protéiques ribosomiales* et les *ribosomes* partiellement assemblés. Ces macromolécules ne sont pas réparties au hasard mais en fonction de leur activité et de leurs interrelations.

■ Les procaryotes sont capables de synthétiser des ribosomes en l'absence de nucléole. Les cellules eucaryotes, au cours de leur évolution, ont développé un nucléole : il renforce l'efficacité des synthèses.

C. Morphologie en microscopie optique

En microscopie optique, le nucléole apparaît sous la forme d'un granule, sphérique ou ovale, entouré plus ou moins complètement d'un anneau de chromatine.

Le nucléole comprend en effet :

- le *corps nucléolaire*, en général sphérique, qui correspond à la partie du nucléole entourée de chromatine périnucléolaire ; les colorations par l'azur C, le bleu de toluidine, le montrent sous l'aspect d'un corps dense, homogène, dont la taille (1 à 2 μm en moyenne) varie dans les cellules normales ;
- la *chromatine périnucléolaire*, qui se dispose sous la forme d'un croissant entourant plus ou moins complètement le corps nucléolaire. Elle présente des propriétés physiques singulières qui permettent d'isoler des nucléoles intacts par ultracentrifugation (le calcium durcit cette zone de chromatine : en l'absence de calcium, le nucléole se gonfle et perd ses caractères morphologiques).

D. Morphologie en microscopie électronique

La microscopie électronique révèle la disposition des macromolécules fibrillaires et granulaires du nucléole, leur organisation dans le nucléole, ainsi que leur rapport avec l'ADN.

Les constituants nucléolaires se répartissent dans une matrice dense, à distribution généralement *réticulée* (fig. 10.35), chaque maille du réseau ayant une épaisseur de 0,1 à 0,2 μm .

Entre les mailles se détachent des surfaces claires (dénommées *vacuoles* par le Comité de la nomenclature nucléolaire, terme qui prête à confusion ; les termes d'*interstice nucléolaire*, *nucleolar interstitia*, semblent mieux convenir).

Les *nucléoles compacts* (fig. 10.36) sont caractérisés par une répartition homogène des constituants granulaires et fibrillaires. Dans les conditions normales, ils existent seulement dans quelques types cellulaires comme les *lymphoblastes*. Un traitement par l'actinomycine D ou le thioacétamide peut en induire la formation.

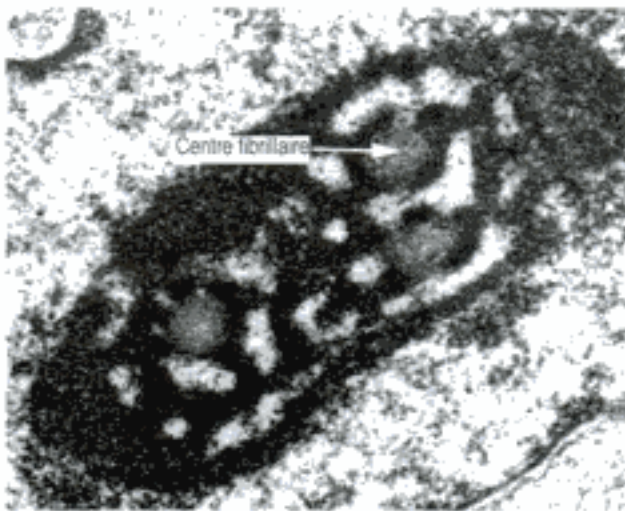


Fig. 10.35
Nucléole réticulé.

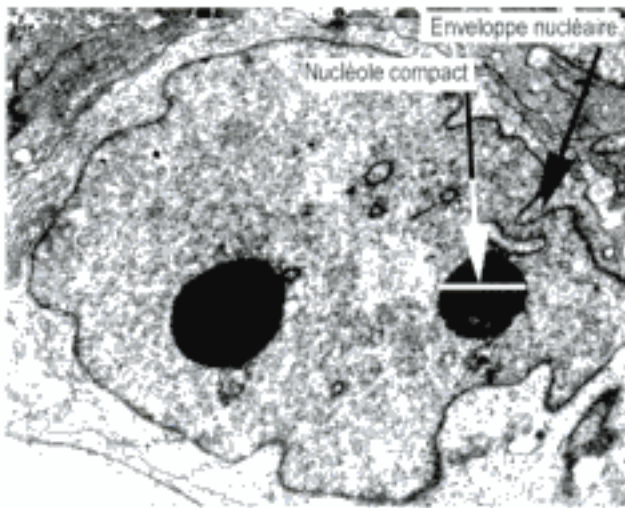


Fig. 10.36
Nucléole compact.

E. Organisation du nucléole

1. Les trois régions nucléolaires

Chez les eucaryotes, le nucléole est organisé morphologiquement en trois régions distinctes, clairement visibles en microscopie électronique (fig. 10.37).

a. Centre fibrillaire

Le centre fibrillaire est une région claire, qui contient les gènes des ARNr et des protéines impliquées dans la transcription, c'est-à-dire l'ARN polymérase I, les facteurs de transcription *UBF* (*Upstream-Binding Factor* ; facteur de transcription en aval) qui est un facteur auxiliaire augmentant l'activité de l'ARN polymérase I et d'une protéine, la *nucléoline*. La nucléoline présente quatre domaines de liaison aux ARN du type RRM (*RNA Recognition Motif* ; motif de reconnaissance de l'ARN). Elle contrôle les premières étapes de la transcription de l'ADNr comme celles de l'assemblage des préribosomes. Cette protéine effectue continuellement des navettes entre le nucléole et le cytoplasme et elle serait impliquée dans le

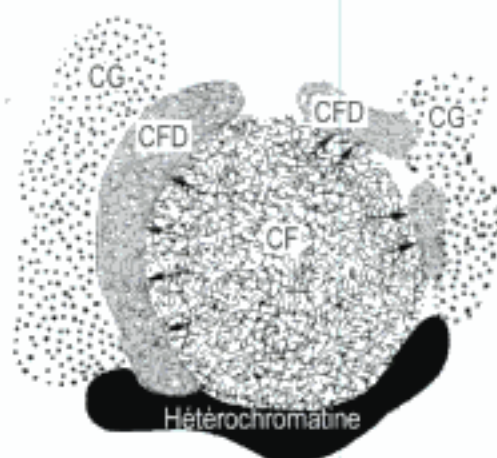


Fig. 10.37

Représentation schématique du nucléole.

CF : centre fibrillaire. CFD : composant fibrillaire dense. CG : composant granulaire. La pointe des flèches indique les sites de transcription de l'ARNr.

transport des protéines ribosomales qui ne possèdent pas de signal d'importation nucléaire. Le centre fibrillaire contient également les espaces intergéniques non transcrits.

Les gènes ribosomaux sont situés à la limite des centres fibrillaires et du composant fibrillaire dense.

b. Composant fibrillaire dense

Le composant fibrillaire dense est une zone dense située autour du centre fibrillaire qui contient une protéine, la *fibrillarine*, associée à des snoRNP et impliquée dans le clivage du pré-ARNr et dans l'assemblage post-transcriptionnel des préribosomes.

c. Composant granulaire

Le composant granulaire entoure le composant fibrillaire dense : c'est le site d'assemblage des préribosomes.

2. Centres organisateurs nucléolaires

a. Définition

Les NOR sont des régions chromosomiques porteuses des gènes qui codent pour les ARN ribosomaux.

b. Localisation

Le nucléole contient de grandes boucles d'ADN, appartenant à cinq paires de chromosomes (fig. 10.38).

Chacune de ces boucles contient un groupe de gènes d'ARNr (une quarantaine environ par chromosome, soit 200 par génome haploïde). L'ADNr (ADN dont le résultat de la transcription est l'ARNr 45 S) est en effet un gène amplifié. Chacun de ces groupes constitue un NOR. Les NOR sont localisés dans les *constrictions secondaires* des bras courts des chromosomes acrocentriques 13, 14, 15, 21, 22. Ils sont associés, pendant la mitose, à des protéines nucléolaires (nucléoline, ARN polymérase, etc.).

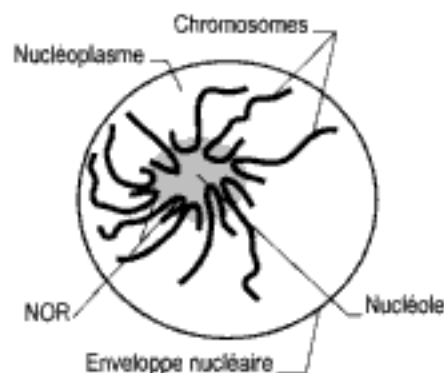


Fig. 10.38

Les centres organisateurs.

Les NOR, portés par les bras courts des chromosomes acrocentriques au niveau d'une zone de constriction secondaire, sont situés dans le nucléole.

L'utilisation d'une technique à base de nitrate d'argent associé à un colorant permet de voir, en MO, les constriction secondaires précédemment mentionnées : elles apparaissent en noir. Cette imprégnation argentique ne révèle pas l'ADN puisqu'une digestion de l'ADN par la DNase avant la coloration est sans effet. Elle met en évidence des protéines nucléolaires présentes pendant la transcription des gènes.

F. Fonctions du nucléole

1. Synthèse des ARNr

L'ADNr qui code l'ARNr est un *gène amplifié*. L'ADNr se localise à la limite des centres fibrillaires et du composant fibrillaire dense. C'est dans cette zone que s'effectue la transcription. Les unités de transcription de l'ADNr sont liées au centre fibrillaire contenant l'ARN polymérase I et l'ADN topoisomérase.

Les chromosomes acrocentriques contiennent chacun une *vingtaine de gènes*, codant pour l'ARNr. Les gènes qui entrent dans la constitution des NOR sont séparés par des *espaceurs intergéniques non transcrits* : ils renferment la région promotrice, localisée à l'extrémité 5' du gène et une région activatrice qui accroît la vitesse de transcription de l'ADN.

Un gène et un espaceur sont constitués par 40 000 pb. Cette unité (gène plus espaceur) est répétée 300 à 400 fois. Chaque gène contient des *espaceurs intragéniques* (qui sont transcrits). Deux de ces espaceurs sont situés à l'extrémité 5' et 3' de chaque gène, deux séparent les segments d'ADNr qui donneront, par transcription, l'ARNr 45 S, d'où dérivent après maturation les ARNr 18 S, 5,8 S et 28 S.

a. Transcription par l'ARN polymérase I

L'ADNr est transcrit par l'*ARN polymérase I*. De nombreuses molécules d'*ARN polymérase I* lisent l'ADNr dans le sens 3' → 5'. Les transcrits, en cours de formation, sont ancrés aux gènes de l'ARNr par des particules espacées de 10 à 14 nm, qui contiennent de l'ARN polymérase I : leur extrémité 5' transporte un granule d'un diamètre de 25 nm, la « *balle terminale* » (fig. 10.39).

Les transcrits, pour un seul gène, sont si nombreux qu'ils se disposent perpendiculairement les uns aux autres, de telle sorte que chaque unité de transcription a la forme caractéristique en « *sapin de Noël* » (voir fig. 10.22). Les balles terminales sont des complexes qui interviennent dans la matura-

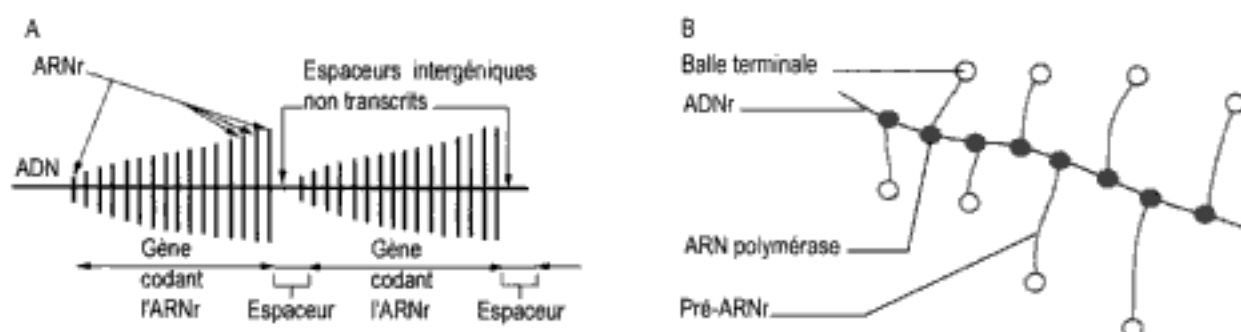


Fig. 10.39

Transcription d'un gène codant pour l'ADNr (voir aussi la fig. 10.22).

A. Gène amplifié codant pour l'ADNr.

B. Chaque gène est lu simultanément par plusieurs complexes de transcription. Les molécules de pré-ARNr naissantes portent, à leur extrémité, un granule, la balle terminale, constitué par le complexe intervenant dans leur maturation.

tion des pré-ARNr : elles sont constituées par snoRNP U3 et des protéines qui s'assemblent étroitement avec l'extrémité 5' de l'espaceur transcrit.

L'ARNr 5 S, synthétisé en dehors du nucléole par action de l'ARN polymérase III à partir d'un groupe de gènes extranucléolaires disposés en tandem, et l'ARNr 45 S sont insérés dans un complexe protéique (formé par les protéines ribosomales) comprenant déjà la presque totalité des 80 polypeptides qui constituent le ribosome.

Le nucléole interviendrait également dans la maturation d'autres ARN non codants et dans leur association avec des protéines afin de constituer des ribonucléoprotéines. Par exemple, le petit ARN U6 (snRNA U6) est modifié, dans le nucléole, par *snoRNA U6* (petit ARN nucléolaire U6) avant de s'associer à une RNP pour former snRNP U6 qui intervient dans l'épissage du pré-ARNm.

b. Contrôle de la transcription

La *nucléoline*, une protéine de liaison avec l'ARN, est une protéine navette entre le noyau et le cytoplasme. Elle intervient dans la *régulation de la transcription*.

Lorsqu'elle est phosphorylée, elle libère les histones H1 et permet la transcription de l'ADN en ARNr 45 S : déphosphorylée, elle inhibe la transcription. La transcription dépend également de la quantité de ribosomes présents dans le cytoplasme. Le thioacétamide (CH₃CSH) induit une biosynthèse accrue de l'ARNr. Or, le thioacétamide provoque des lésions de la membrane lysosomale, ce qui entraîne une destruction massive des ribosomes : leur quantité baisse de 50 à 75 %. Le nucléole répond par une hypertrophie accompagnée d'une production accrue d'ARNr. Il existerait un système de rétroaction (*feedback*) ; les ribosomes eux-mêmes, ou un produit ribosomal, auraient un effet inhibiteur. Leur destruction lèverait donc l'inhibition.

c. Synthèse des protéines ribosomales

Les protéines ribosomales sont synthétisées dans le cytoplasme : certaines pénètrent dans le noyau grâce à une séquence NLS.

d. Protéines ribosomales dans le nucléole

Les protéines destinées aux nucléoles sont porteuses d'un domaine riche en glycine et en arginine (GAR) et d'un domaine RRM capable d'interagir

avec un motif de reconnaissance de l'ARNr. L'importation dans le nucléole dépend de multiples interactions de la protéine, porteuse des domaines RRM et GAR, avec des macromolécules déjà présentes dans le nucléole. Par exemple, la *nucléoline* est une protéine navette caryophile qui possède un *signal NLS*. Elle ne peut pénétrer dans le nucléole qu'en se combinant soit avec de l'ARN, soit avec une protéine nucléolaire. Il en est de même pour la protéine *Rex*, une protéine (homologue de Rev) du rétrovirus humain HTLV, qui pénètre dans le nucléole en se combinant avec une protéine nucléolaire, la *protéine B23*, un facteur présumé d'assemblage des ribosomes. Cette protéine B23 appartient à ce groupe de protéines navettes entre le noyau et le cytoplasme.

Des protéines de liaison, comme la *nucléoline*, ainsi que des petites particules ribonucléoprotéiques, par exemple U3 snoRNP, s'incorporent au nucléole pour contrôler l'*assemblage des protéines* en un ribosome. L'assemblage des protéines ribosomales autour de l'ARNr démarre avant que la transcription de l'ARN précurseur ne soit terminée (fig. 10.40).

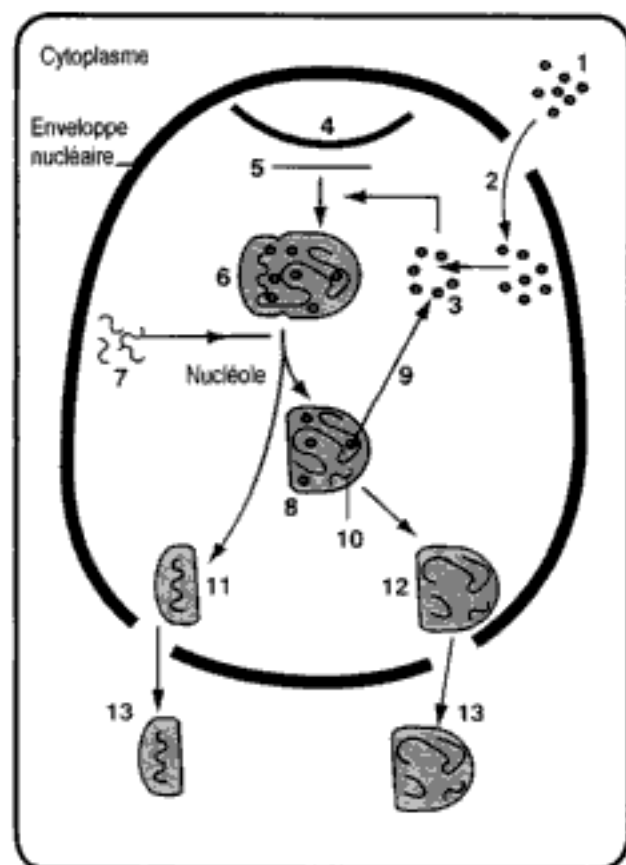


Fig. 10.40

Le nucléole et la synthèse des ribosomes.

1. Protéines ribosomales situées dans le cytoplasme.
2. Importation des protéines ribosomales dans le nucléole.
3. Passage des protéines ribosomales dans le nucléole.
4. Une boucle d'ADN porteuse de gènes codant pour l'ARNr.
5. Précurseur de l'ARNr.
6. Particule constituée de RNP (préribosomes) assemblés autour du précurseur de l'ARNr 45 S.
7. ARNr 5 S synthétisé hors du nucléole : il gagne le nucléole pour s'incorporer dans la future grande sous-unité.
8. Grande sous-unité non mature.
9. Recyclage des nucléotides excisés et des protéines intervenant dans la maturation.
10. ARNr 5 S.
11. Petite sous-unité.
12. Grande sous-unité.
13. Exportation des unités ribosomales.

2. Maturation des précurseurs des ARNr**a. Pré-ARNr**

Le pré-ARN ribosomal est une molécule qui contient les ARNr 18 S, 5,8 S et 28 S, séparés par des espaceurs intragéniques transcrits.

b. Maturation du précurseur pré-ARNr

La maturation de l'ARNr se déroule dans un *préribosome* (fig. 10.41).

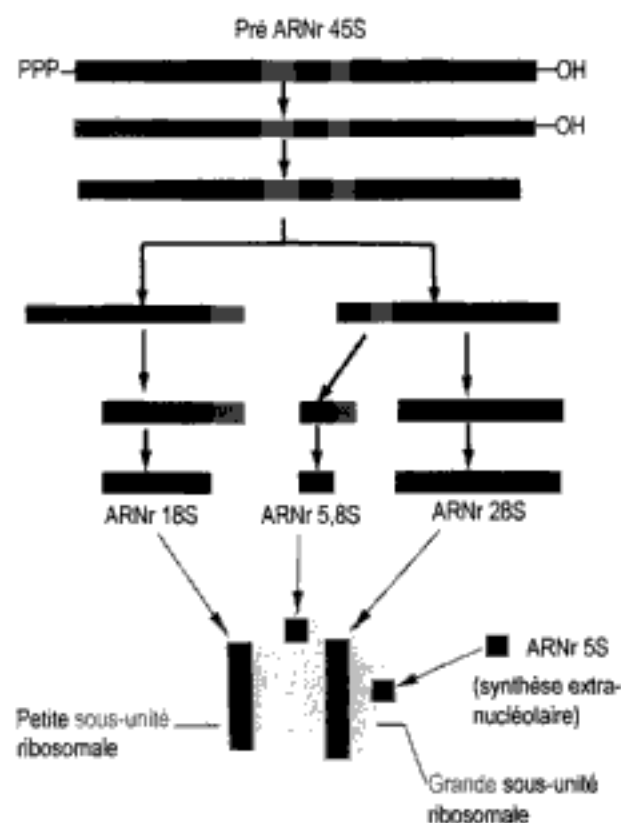


Fig. 10.41

Maturation de l'ARNr 45 S.

Formation des ARNr 18 S, 5,8 S, 28 S.

Le pré-ARN possède un haut niveau de *méthylation* par rapport aux autres transcrits d'ARN. Il contient, avant le premier clivage, plus d'une centaine de *fonctions méthyle* dont la quasi-totalité intéressent le ribose. La répartition des groupements méthyle est telle que tous les nucléotides méthylés sont conservés dans les ARNr mûrs.

La maturation est caractérisée par une perte de fragments d'ARN (et des protéines associées), par un clivage des espaceurs intragéniques par des *endonucléases* (donc selon un mécanisme très *différent de l'épissage* des introns des gènes de classe II).

c. Clivage des espaceurs transcrits

Le pré-ARNr, avant de subir la série de coupures endo et exonucléolytiques qui libèrent les ARNr mûrs, subit des modifications de deux types : une conversion des molécules d'uridine en pseudo-uridine et des méthylations, principalement sur le ribose mais aussi sur quelques bases, dont

3. Assemblage de la particule SRP

La particule SRP (*Signal Recognition Particle* ; particule de reconnaissance du signal) est un complexe ribonucléoprotéique, qui ancre le ribosome sur le RE au moment de la traduction d'une protéine (voir chapitre 16, p. 446). L'ARN SRP, injecté dans le nucléoplasme, migre rapidement dans le nucléole avant d'être exportée dans le cytoplasme. Sur les cinq protéines qui constituent la SRP, trois sont présentes dans le nucléole : cela indique que l'assemblage de SRP se déroule dans le nucléole.

4. Modulation du taux d'expression de p53

Le nucléole intervient également dans la régulation de l'activité de la protéine p53. Cette protéine est un facteur de transcription qui contrôle la prolifération de la plupart des cellules. L'activité et la concentration de p53 sont contrôlées par Mdm2. Mdm2 est un oncogène présent dans le nucléoplasme et dans le cytoplasme : il se lie à p53 et bloque ainsi son activité de facteur de transcription. La protéine oncogène p19^{ARF}, exclusivement localisée dans le nucléole, stabilise p53 en séquestrant Mdm2, ce qui a pour effet d'abolir le transport cytoplasmique de p53. Si la protéine oncogène p19^{ARF} est surexprimée, elle entraîne la relocalisation de Mdm2 dans le nucléole.

G. Dynamique des nucléoles au cours du cycle cellulaire

Les nucléoles sont indispensables à un déroulement normal de la mitose. Des altérations importantes des nucléoles provoquent le

Une phosphorylation des protéines nucléaires serait à l'origine de cette désagrégation qui se caractérise tout d'abord par une dispersion des composants granulaires et fibrillaires denses. Après cette dispersion, *seules subsistent les NOR* qui sont associés à *des centres fibrillaires*.

Des protéines nucléolaires (nucléoline, ARN polymérase I, etc.) restent associées aux NOR pendant la division cellulaire.

Au cours de la prophase, le nucléole décroît, puis disparaît pour réapparaître à la télophase : la synthèse de l'ARNr est arrêtée et les *protéines* qui interviennent dans la transcription de l'ADNr (ARN polymérase, ADN polymérase, UBF) *restent associées à NOR*.

2. Reconstruction postmitotique des nucléoles

L'insertion d'un gène de l'ARNr dans une région euchromatique conduit à la formation d'un nucléole au niveau du site d'insertion. La *formation initiale* d'un nucléole requiert la *transcription de l'ADNr* par l'ARN polymérase I. Elle dépend de l'interaction de deux entités, les *corps prénucléolaires* (PNB : *Pre-nucleolar Bodies* ; corps prénucléolaires) et les *NOR*.

Les *PNB* apparaissent au cours de la télophase : ils sont au nombre de 10 pour chacun des futurs noyaux. Ils contiennent des protéines caractéristiques du *composant granulaire dense*. Ils sont dispersés dans les noyaux au cours du début de la phase G1. Lorsque la transcription de l'ADNr est achevée, les PNB s'agglomèrent autour des NOR du nucléole qui se reforme. Il se forme alors, dans chacune des cellules filles, 10 PNB, qui grossissent rapidement et fusionnent en un nucléole interphasique.

3. Maintien de l'intégrité structurale du nucléole

Le maintien de l'intégrité structurale dépend de l'activité transcriptionnelle des facteurs de transcription, des polymérases, des pré-ARNr naissants, des protéines et des snoRNA qui leur sont associés.

La polymérase I joue un rôle structural : ainsi, des levures mutantes dépourvues de polymérase I ne possèdent plus de nucléole mais des corps denses très riches en fibrilline, appelés corps mini-nucléolaires, qui ressemblent à des fragments du composant fibrillaire dense induit par une inhibition de la transcription de l'ADNr.

4. Variation du volume nucléolaire

Le nucléole subit des variations morphologiques dont certaines sont physiologiques (elles dépendent des conditions de fonctionnement normal de la cellule) et d'autres sont anormales ou pathologiques (elles apparaissent soit au cours de processus morbides, d'intoxication par des substances chimiques diverses, soit après emploi d'agents physiques).

Elle s'accompagne d'une disparition des espaces clairs et des éléments fibrillaires, d'une augmentation de l'aspect compact, due à une élévation de la concentration des éléments granulaires et de la quantité d'ARNr 45 S.

Les augmentations de volume sont induites, par exemple, par des hormones qui contrôlent normalement l'activité cellulaire.

Un exemple de régulation de l'activité nucléolaire

► Les androgènes contrôlent l'activité nucléolaire des cellules glandulaires prostatiques. La prostate, glande annexe du tractus génital mâle, dépend étroitement d'un type d'hormone, les androgènes, sécrétés par le testicule. Chez l'adulte, après castration, la prostate régresse. Cette régression est réversible : un traitement de substitution par la testostérone fait disparaître l'atrophie. Privées d'androgènes, les cellules n'élaborent qu'une quantité minimale de protéines, insuffisante pour maintenir leur volume habituel, car le nucléole régresse et ne synthétise plus un nombre suffisant de ribosomes. L'injection d'androgènes provoque une stimulation nucléolaire, accroît la synthèse d'ARNr 45 S et augmente donc le nombre des ribosomes.

5. Variations morphologiques pathologiques

Dans des conditions pathologiques, le nucléole subit des altérations qui entraînent soit une inhibition, soit une stimulation anormale de son activité.

a. Inactivation nucléolaire

L'inactivation nucléolaire provoque :

- soit une augmentation du nombre des nucléoles (cellules polyploïdes, cellules néoplasiques, déroulement anormal d'une mitose qui se caractérise par l'absence de cytodierèse et la reconstitution d'un seul noyau) ;
- soit une diminution des nucléoles (hypotrophie nucléolaire qui s'observe au cours de blocages par l'actinomycine, l'asparaginase, la daunomycine, la nogalomycine) ;
- soit l'expulsion nucléolaire qui est un phénomène plus rare exprimant la souffrance cellulaire ;
- soit une vacuolisation nucléolaire, phénomène rare survenant après action, par exemple, de l'amphotéricine B ;
- soit une fragmentation, altération pathologique survenant au cours de la phase de post-synthèse (phase G2) et provoquée par divers agents (daunomycine, ribonucléase, sarcolysine).

b. Hypertrophie nucléolaire pathologique

Dans les cellules néoplasiques, le nucléole représente, pour les cytopathologistes, un organe de choix, puisque ses modifications structurales font partie d'un ensemble de critères qui permettent de placer, sur une cellule, l'étiquette de cellule cancéreuse. Cette transformation du nucléole intéresse le volume qui est augmenté, le nombre, la forme. Il faut cependant insister sur le fait que ces altérations nucléolaires ne sont pas spécifiques du cancer, qu'elles ne sont pas suffisantes à elles seules pour affirmer le diagnostic, et qu'il est nécessaire qu'elles soient associées à d'autres modifications nucléaires ou cytoplasmiques. Cependant, les caractères nucléolaires sont une aide précieuse dans l'approche du diagnostic.

L'hypertrophie nucléolaire peut être induite par des substances toxiques : elles regroupent le thioacétamide, la phytohémagglutinine, la pilocarpine, les radiations, les infections par les adénovirus, etc.

6. Ségrégation nucléolaire

a. Définition

La ségrégation nucléolaire se définit par une *séparation des divers constituants du nucléole* (éléments fibrillaires, granulaires, matrice).

La ségrégation des nucléoles (fig. 10.43), bien que pressentie par les études en microscopie optique, mérite une place particulière : elle n'est visible qu'en microscopie électronique et elle accompagne souvent des altérations précédemment énumérées.

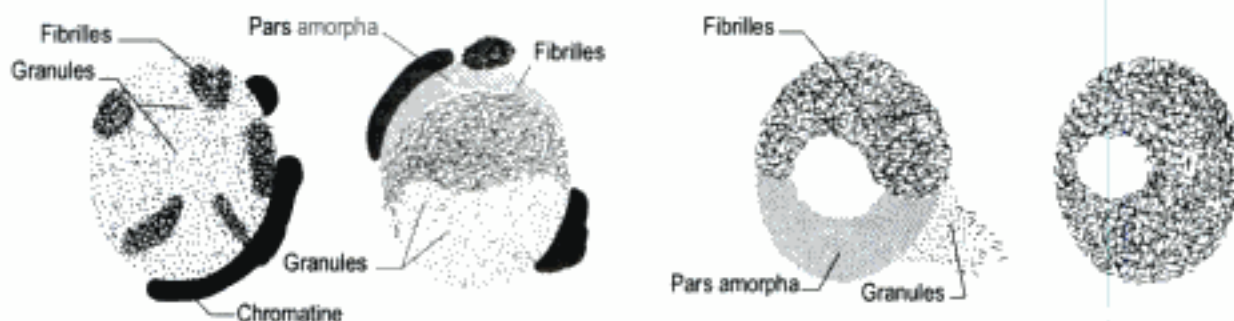


Fig. 10.43
Ségrégation du nucléole.

On distingue, en fonction de la dimension des zones occupées spécifiquement par l'un des constituants nucléolaires, de leur unité ou de leur multiplicité, une macroségrégation ou une microségrégation.

b. Macroségrégation

La macroségrégation, qui intéresse surtout les nucléoles réticulés, se déroule en trois étapes :

- *première étape* : quatre zones distinctes apparaissent dans le corps nucléolaire, par regroupement de chacun des éléments. Les éléments fibrillaires se groupent en une masse plus ou moins compacte, tandis que les éléments granulaires, les protéines de la matrice en font autant. Le nucléole est alors constitué par l'association de quatre zones ayant chacune leurs propres caractères morphologiques, qui permettent de les différencier. On distingue :
 - une zone fibrillaire et une zone granulaire, toutes deux contenant de l'ARN,
 - une pars amorpha de nature protéique,
 - une substance dense, voisine du nucléole : sa composition n'est pas connue ; elle pourrait cependant être constituée de ribonucléoprotéines disposées d'une manière très dense ;
- *deuxième étape* : la pars amorpha augmente de volume, tandis que la masse granulaire diminue et que la masse fibrillaire persiste ;
- *troisième étape* : le corps nucléolaire ne renferme plus qu'une volumineuse masse fibrillaire.

c. Microségrégation

La microségrégation aboutit à la formation d'agréats nucléolaires de petites dimensions. Ces agrégats multiples sont constitués soit d'éléments

fibrillaires entourés de granules, soit d'éléments granulaires entourés de fibrilles. Les microsphérules sont des petites formations arrondies, formées d'éléments fibrillaires très denses, distribuées à la périphérie nucléaire. Elles s'apparentent aux agrégats nucléolaires décrits précédemment.

d. Agents causaux

La ségrégation s'observe après action d'agents chimiques ou physiques qui bloquent la formation de l'ARNr 45 S. Cet arrêt de la synthèse est provoqué soit par altération du système ARN polymérase, soit par rupture des molécules d'ADN (chaleur, rayons X ou UV).

Les substances qui bloquent la formation de l'ARNr 45 S sont nombreuses. Seules quelques-unes sont données à titre purement indicatif. Ce sont :

- des antibiotiques antimétaboliques (actinomycine D, mitomycine C, chloromycine, cycloheximide, daunomycine, puromycine, rifamycine, etc.) ;
- des antimétaboliques non antibiotiques (acridine orange, adénosine, bromure d'éthidium, fluoro-uracile, nicotinamide, moutarde à l'azote, etc.) ;
- des substances carcinogènes ;
- des toxines microbiennes ;
- des agents physiques (chaleur, rayons X, UV).

POINTS CLÉS

- Le nucléole est le siège de la transcription des ADNr en pré-ARNr par l'ARN polymérase I.
- Le nucléole comprend le centre fibrillaire qui contient les gènes des ARNr et des protéines impliquées dans la transcription. Le composant fibrillaire dense est impliqué dans le clivage du pré-ARNr et dans l'assemblage post-transcriptionnel des préribosomes. Le composant granulaire entoure le composant fibrillaire dense : c'est le site d'assemblage des préribosomes.
- Le nucléole contient 200 gènes d'ARNr appartenant à cinq chromosomes (par génome haploïde). Ces gènes forment les NOR. Chaque nucléole comprend un centre fibrillaire entouré par le composant fibrillaire dense et le composant granulaire. La transcription de l'ADN en ARNr 45 S se déroule dans le nucléole et dépend de l'ARN polymérase I : elle est contrôlée par la nucléoline et par le nombre des ribosomes. Les protéines ribosomales d'origine cytoplasmique commencent à s'assembler sur le pré-ARNr en cours de synthèse. L'ARNr 45 S mûrit sans épissage. Les uridines des pré-ARNr sont converties en pseudo-uridines, tandis que le ribose est méthylé.
- Les ARNr modifiés sont clivés en deux molécules, l'une pour la petite sous-unité (ARNr 18 S), l'autre pour la grosse sous-unité où elle subira un autre clivage (5,8 S et 28 S). Les protéines nucléolaires portent le signal GAR. L'ARNr 5 S est synthétisé, en dehors du nucléole, par l'ARN polymérase III.
- Les altérations nucléolaires (UV, cycloheximide) inhibent la mitose.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Le noyau

- ☐ A. Dans un même organisme, tous les noyaux ont la même forme.
- ☐ B. On ne trouve des cellules anucléées que dans les lignées sanguines.
- ☐ C. La forme diffère selon l'activité cellulaire.
- ☐ D. Un syncytium provient de multiples divisions sans cytotélerèse.
- ☐ E. En microscopie électronique, le noyau apparaît parfaitement homogène.

2. Le noyau

- ☐ A. C'est le seul organe cellulaire à stocker de l'ADN.
- ☐ B. Le rapport volume nucléaire/volume cellulaire est variable d'un tissu à l'autre.
- ☐ C. 30 % des hépatocytes sont binucléés.
- ☐ D. Il est séparé du cytoplasme par la membrane nucléaire.
- ☐ E. Son volume varie pendant l'interphase.

3. Organisation du noyau

- ☐ A. L'ADN est libre dans le noyau.
- ☐ B. Les centromères se regroupent près du nucléole.
- ☐ C. La fibre périchromatinienne contient entre autres l'ARN polymérase.
- ☐ D. L'ADN actif est en périphérie des amas chromosomiques.
- ☐ E. Les topo-isomérases sont les constituants majoritaires de la matrice.

4. Euchromatine/hétérochromatine

- ☐ A. L'hétérochromatine est de la chromatine hyper condensée.
- ☐ B. L'euchromatine est la chromatine en cours de transcription ou de duplication.
- ☐ C. L'euchromatine représente 25 % de la chromatine.
- ☐ D. Une séquence d'ADN peut passer de la forme euchromatine à la forme hétérochromatine.
- ☐ E. Les solénoïdes sont les formes de compaction les plus importantes rencontrées dans l'hétérochromatine en interphase.

5. L'ADN

- ☐ A. Il est toujours bicaténaire.
- ☐ B. Les deux brins d'ADN sont antiparallèles.
- ☐ C. Le sucre de l'ADN est le 3 désoxyribose.
- ☐ D. La base est associée avec le C1 du désoxyribose en position alpha.
- ☐ E. Les associations de bases (AT et CG) reposent sur des liaisons covalentes.

6. Les histones

- ☐ A. Sont des protéines basiques riches en arg et his.
- ☐ B. Sont des protéines basiques riches en arg et lys.
- ☐ C. Sont des protéines basiques riches en lys et his.
- ☐ D. Les histones (H2a, H2b, H3 et H4) sont des protéines très conservées au cours de l'évolution.
- ☐ E. Ce sont des protéines de PM inférieur à 25 kD.

7. Le nucléosome

- ☐ A. Est l'association de 4 histones (H2a, H2b, H3 et H4) constituant le cœur protéique sur lequel s'enroule l'ADN.
- ☐ B. L'histone H1 est localisée à l'extérieur du nucléosome.
- ☐ C. Il n'existe pas de région d'ADN non associée à des histones.
- ☐ D. Est spécifique des eucaryotes.
- ☐ E. Les interactions ADN/histones reposent sur des liaisons de type ionique.

8. La fibre nucléosomique

- ☐ A. L'association ADN/histones empêche la destruction de l'ADN.
- ☐ B. L'ADN espaceur est l'ADN situé entre deux nucléosomes.
- ☐ C. Le diamètre de la fibre est de 2 nm.
- ☐ D. L'enroulement de l'ADN autour des histones provoque une diminution de la longueur de la molécule d'un facteur 10.
- ☐ E. L'enroulement de la fibre nucléosomique lors de la spiralisation de 1^{er} ordre provoque une diminution de la longueur de la molécule d'un facteur 40.

9. La réplication

- ☐ A. Est globalement identique chez les procaryotes et les eucaryotes.
- ☐ B. Donne deux molécules d'ADN parfaitement identiques.
- ☐ C. Les polymérases lisent le brin d'ADN matrice dans le sens 5' → 3'.
- ☐ D. Il n'y a qu'une seule fourche qui se déplace.
- ☐ E. L'ADN polymérase des procaryotes se déplace moins vite que celle des eucaryotes.

10. La réplication

- ☐ A. L'ADN polymérase ne peut fonctionner sans une amorce d'ARN.
- ☐ B. Les segments d'Okazaki sont sur le brin tardif.
- ☐ C. L'ADN girase fait partie du primosome.
- ☐ D. Les protéines SSB participent à l'ouverture de la double hélice.
- ☐ E. La ligase est la dernière enzyme à intervenir dans la réplication.

11. La réplication chez les procaryotes

- ☐ A. Il existe une seule ADN polymérase.
- ☐ B. Il n'existe qu'une seule origine de réplication.
- ☐ C. L'origine de réplication des procaryotes s'appelle ORC.
- ☐ D. L'amorce d'ARN fait 15 nucléotides.
- ☐ E. La taille de l'œil de réplication est de plusieurs centaines de nucléotides.

12. La réplication chez les eucaryotes

- ☐ A. Les processus de régulation sont beaucoup plus complexes.
- ☐ B. Il existe un système de régulation afin qu'il n'y ait qu'une duplication par cycle cellulaire.
- ☐ C. Il existe cinq ADN polymérases nucléaires chez les eucaryotes.
- ☐ D. Il existe plusieurs milliers de séquences d'origine de réplication dans le génome.
- ☐ E. La réplication de l'ADN télomérique nécessite l'intervention d'une transcriptase inverse.

13. La réparation de l'ADN

- ☐ A. Elle n'ont lieu que pendant la phase S.
- ☐ B. L'ADN polymérase est capable de se corriger.
- ☐ C. La protéine MutL reconnaît les mésappariements sur l'ADN.
- ☐ D. Le complexe MutL et Muts est capable d'exciser un brin néoformé comportant une erreur.
- ☐ E. La réparation de l'ADN implique automatiquement l'excision d'au moins un nucléotide.

14. La transcription chez les eucaryotes

- ☐ A. Il existe deux ARN polymérases nucléaires chez les eucaryotes.
- ☐ B. Les ARN polymérases sont des complexes protéiques contenant entre 8 et 12 sous-unités.
- ☐ C. L'ARN polymérase II a 2 sous-unités identiques à celle de l'ARN polymérase de procaryote.
- ☐ D. L'ARN polymérase se fixe sur le 1^{er} exon.
- ☐ E. L'ARN polymérase en se détachant de l'ADN produit la queue polyA.

15. La régulation de la transcription chez les eucaryotes

- ☐ A. Le promoteur est une séquence en amont du gène sur laquelle vont venir se fixer les facteurs de transcription.
- ☐ B. La TATA box est la seule séquence consensus connue des promoteurs.
- ☐ C. Les séquences régulatrices de type activatrices sont en amont du gène.
- ☐ D. Les séquences régulatrices de type inhibitrices sont en aval du gène.
- ☐ E. Dans le cas de gènes sous le contrôle des hormones stéroïdes, les hormones associées à un récepteur cytoplasmique viennent se fixer sur le promoteur.

16. Les ARNt

- ☐ A. Sont les seuls à posséder des séquences bicaténaires.
- ☐ B. L'acide aminé est fixé sur l'extrémité 5'P.
- ☐ C. Leurs riboses sont méthylés.
- ☐ D. Sont transcrits par l'ARN polymérase III.
- ☐ E. L'extrémité 3'OH diffère pour chaque ARNt.

17. Les ARNm

- ☐ A. Sont transcrits par l'ARN polymérase II.
- ☐ B. Sont associés dans le noyau à des ribonucléoprotéines.
- ☐ C. Peuvent être dégradés avant la traduction.
- ☐ D. Possèdent tous après maturation une queue polyA.
- ☐ E. Sont toujours monogéniques chez les eucaryotes.

18. Maturation des ARNm

- ☐ A. La coiffe en 5' consiste à méthyliser la première guanine de l'ARN.
- ☐ B. La mise en place de la coiffe 5' est le seul processus de maturation cotranscriptionnel.
- ☐ C. L'édition est le processus de contrôle de l'épissage.
- ☐ D. L'édition est un processus de maturation spécifique des ARNm.
- ☐ E. La queue polyA est faite par une polyA polymérase.

19. L'épissage des ARNm

- ☐ A. Consiste à éliminer les introns de l'ARN est cours de transcription.
- ☐ B. Les introns représentent 50 % de l'ARN avant épissage.
- ☐ C. Le complexe responsable de ce processus (spliceosome) est constitué de cinq snRNP.
- ☐ D. Le processus d'épissage se fait au niveau des pores nucléaires.
- ☐ E. Les ARN des snRNP sont des ARN de petite taille : 50 nucléotides.

20. Le nucléole est le lieu

- ☐ A. De la transcription de tous les ARNr.
- ☐ B. De la maturation des ARNr.
- ☐ C. De la transcription des ARNm codant pour les protéines du ribosome.
- ☐ D. De l'assemblage des sous-unités du ribosome.
- ☐ E. De l'assemblage de la SRP qui se fait aussi dans le nucléole.

21. Le nucléole

- ☐ A. A un aspect spécifique pour les cellules d'un même organisme.
- ☐ B. Le regroupement des gènes 45 S s'appelle les NOR.
- ☐ C. Les gènes 45 S sont portés par 10 chromosomes.
- ☐ D. Les gènes en cours de transcription sont localisés dans la région fibrillaire du nucléole.
- ☐ E. L'assemblage des ribosomes s'organise de façon centrifuge.

22. Le nucléole et cycle cellulaire

- ☐ A. Le nucléole est la dernière structure nucléaire à disparaître avant la mitose.
- ☐ B. Le volume du nucléole est variable selon l'activité de la cellule.
- ☐ C. Pendant la mitose, les ARN polymérases restent associées aux NOR.
- ☐ D. Les *prenucleolar bodies* apparaissent lors de la télophase.
- ☐ E. La désorganisation des nucléoles dépend de la phosphorylation des protéines.

23. Les ARNr

- ☐ A. C'est l'ARN polymérase I qui est responsable de leur transcription.
- ☐ B. La maturation de l'ARN 45 S fait appel à des endonucléases exclusivement.
- ☐ C. Les nucléotides éliminés sont préalablement méthylés.
- ☐ D. L'assemblage des sous-unités des ribosomes est post-transcriptionnel.
- ☐ E. La maturation du gène 45 S se fait selon un processus identique à l'épissage des ARNm.

24. Les lamines

- ☐ A. Les lamines A et B sont issues du même gène par épissage alternatif.
- ☐ B. Les lamines sont de la familles des filaments intermédiaires.
- ☐ C. Les lamines sont toutes localisées au contact de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire.
- ☐ D. Les lamines sont phosphorylées lors de la mitose.
- ☐ E. Elles sont des cibles potentielles des caspases.

25. La matrice nucléaire des mammifères

- ☐ A. Correspond à ce qui reste dans le noyau après action des détergents et des DNases.
- ☐ B. Les topo-isomérases constituent le composant majoritaire de la matrice.
- ☐ C. Comporte un nucléosquelette de lamines.
- ☐ D. Contient des protéines responsables de l'enroulement de la chromatine.
- ☐ E. Contient de la tubuline avant la mitose.

26. L'enveloppe nucléaire

- ☐ A. La membrane externe présente des ribosomes à sa surface.
- ☐ B. La membrane externe contient des canaux à calcium.
- ☐ C. L'espace intermembranaire communique avec la lumière du RE.
- ☐ D. La membrane interne a les mêmes activités que la membrane externe.
- ☐ E. La protéine 58 kDa est le récepteur des lamines A et C.

27. Les pores nucléaires

- ☐ A. Sont des complexes protéiques d'une taille de 125kd.
- ☐ B. Ont une symétrie d'ordre 8.
- ☐ C. Leur nombre varie selon l'état physiologique de la cellule.
- ☐ D. Contrôlent les entrées et sorties du noyau.
- ☐ E. C'est un transport dit actif pour des molécules de plus de 60 kDa.

28. Fonctionnement des transports via les pores nucléaires

Le transport de protéines du cytoplasme vers le noyau

- ☐ A. Fait appel à des protéines transporteuses.
- ☐ B. Fait appel à des protéines G.
- ☐ C. La phosphorylation de ces protéines transportées a lieu pendant ce processus.
- ☐ D. Lors du transfert il n'y a pas d'interaction entre les protéines transporteuses et les composants du pore nucléaire.
- ☐ E. Le système d'adressage des protéines vers le noyau est une séquence d'AA qui est éliminée lors de la traversée du pore.

29. Fonctionnement des transports via les pores nucléaires

Le transport du noyau vers le cytoplasme

- ☐ A. Pour les protéines, il fait appel à un système de transport comparable au transport du cytoplasme vers le noyau.
- ☐ B. Pour les ARNm, il n'a pas de protéines transporteuses.
- ☐ C. Les ARNm perdent leurs hnRNP lors de la traversée du pore.
- ☐ D. Pour les ARNm, c'est la queue poly A qui sort en premier.
- ☐ E. Pour les ARN, la sortie du noyau repose uniquement sur le gradient de concentration.

QROC

1. Donner la définition d'un plasmide.
2. En quoi consiste une expérience de mérotomie ?
3. Quel type de liaison chimique unit les histones à l'ADN ?
4. Cette association ADN histones est-elle stable ?
5. Citer les modifications post-traductionnelles des histones.
6. Quelle est la taille du fragment d'ADN directement associé au core d'histones ?
7. Qu'appelle-t-on l'hétérochromatine constitutive ?
8. Qu'appelle-t-on l'hétérochromatine facultative ?
9. Quelle est la conséquence d'une méthylation de l'ADN ?
10. Citer les différences existantes entre un nucléoside et un nucléotide.
11. Qu'appelle-t-on la liaison phosphodiester ?
12. Donner la composition du primosome.
13. Quel est le taux d'erreur de l'ADN polymérase chez *E. coli* ?
14. Citer un système de réparation de l'ADN pendant la phase S.
15. Citer les différences existantes entre ADN et ARN.
16. Citer les différences existantes entre ADN polymérase et ARN polymérase.
17. Comment se présentent les unités de transcription en ME ?
18. Comment est associé l'ADN aux lamines ?
19. Dans le système de transport des molécules via les pores nucléaires, différentes séquences signal ont été mises en évidence, préciser lesquelles et indiquer leur rôle.
20. Décrire l'organisation des nucléoles.
21. Comment et où se forme l'ARN r 5 S ?
22. Donner les principales étapes de la maturation des ARN.
23. Donner la localisation des NOR sur les chromosomes.
24. Quels sont les chromosomes porteurs des NOR chez l'homme ?

Pour les corrections, se reporter à la page 581

Les chromosomes

- I. Définition**
- II. Morphologie du chromosome mitotique**
- III. Variations de forme au cours du cycle cellulaire**
- IV. Organisation moléculaire des chromosomes mitotiques**
- V. Les centromères**
- VI. Le kinétochore**

De tous les éléments observés pendant la mitose et la méiose, les chromosomes ont été les éléments les plus étudiés. Leur découverte a été faite par un botaniste, Homeister, en 1848. Ces formations filamenteuses, observées pour la première fois dans les cellules du pollen de *Tradescantia* (nom populaire : misère), furent baptisées chromosomes par Waldeyer en 1888.

Les quelques notions exposées dans ce chapitre se limitent à celles qui sont utiles pour la compréhension du chapitre suivant consacré au cycle cellulaire.

I. Définition

Le chromosome des cellules eucaryotes est le support morphologique de l'information génétique. Il est formé par une fibre nucléosomique non circulaire (elle possède donc des extrémités) dont le compactage varie au cours du cycle cellulaire.

II. Morphologie du chromosome mitotique

Dans les cellules eucaryotes, les chromosomes ont la forme de segments linéaires (fig. 11.1) qui subissent d'importantes variations morphologiques au cours du cycle cellulaire : chez l'Homme, le nombre de chromosomes est de 23 paires : 22 autosomes et 2 chromosomes sexuels (gonosomes), le chromosome X et le chromosome Y. Chez les procaryotes, l'ADN a une forme circulaire (bactéries, levures, etc.), ainsi que dans les mitochondries.

III. Variations de forme au cours du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des modifications subies par une cellule entre la fin de deux mitoses successives, c'est-à-dire entre sa formation, par division de la cellule mère, et le moment où cette cellule a fini de se

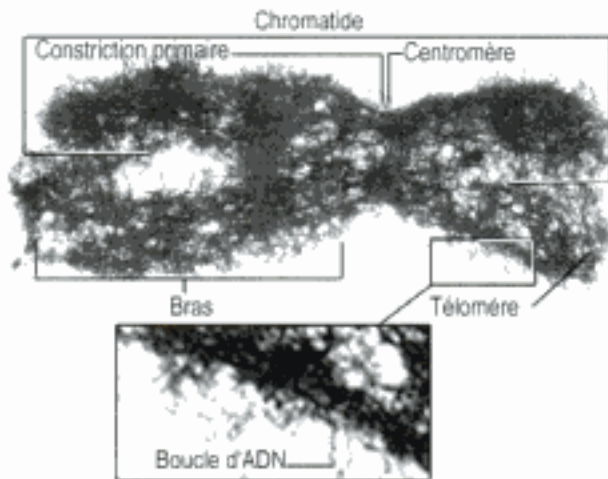


Fig. 11.1

Morphologie d'un chromosome métaphasique en MET. Après la réplication de l'ADN, les chromosomes contiennent deux chromatides. Les molécules d'ADN contenues dans chaque chromatide sont identiques. Les chromatides sont attachées l'une à l'autre au niveau du centromère qui est situé dans la zone de constriction primaire.

diviser par mitose en deux cellules filles. Ce cycle (voir chapitre suivant, p. 307) comprend donc une *interphase* et une *mitose*. Au cours du cycle cellulaire, les chromosomes subissent des modifications morphologiques liées essentiellement à l'enroulement de la fibre nucléosomique.

L'*interphase* regroupe les phases successives suivantes : *G1* (phase post-mitotique), *S* (phase de réplication de l'ADN) et *G2* (phase pré-mitotique). Au cours de l'*interphase*, les chromosomes sont plus ou moins *décompactés* à l'exception des *chromosomes polyténiques* (chez les diptères, le chromosome subit une succession de réplifications sans séparation des chromosomes répliqués), par exemple, chez la drosophile, les chromosomes, qualifiés de chromosomes géants, constitués par 1 600 chromatides accolées les unes aux autres, et les chromosomes en écouvillon des ovocytes des vertébrés.

Pendant la phase *G1*, les chromosomes sont constitués par une fibre nucléosomique plus ou moins déroulée.

À la fin de la phase *S*, ils sont formés par deux fibres nucléosomiques réunies par un centromère.

Pendant la phase *G2*, les fibres nucléosomiques associées deux par deux commencent à se condenser. Cette condensation ou compactage est déclenchée par la *kinase Aurora B* qui phosphoryle l'histone H3 : cette phosphorylation précède l'activation de la kinase cycline B-cdc2. La condensation est maximale après recrutement des *condensines* (une molécule pour 10 000 nucléotides) qui utilisent l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP pour enrouler les chromosomes pendant l'interphase et les transformer en chromosomes mitotiques. Les *condensines* sont des complexes protéiques volumineux composés de cinq polypeptides qui contiennent deux membres de la famille SMC.

À la phase *M*, les fibres nucléosomiques sont fortement condensées et chacune d'elles se dispose autour de protéines non histones formant l'axe chromosomique. Les chromosomes métaphasiques sont constitués par deux chromatides appariés et réunis, au niveau d'une zone, la *constriction dite primaire*, par l'intermédiaire de leur centromère.

Dès le début de l'anaphase, les chromatides se séparent, de telle sorte que chaque chromosome devient monochromatidien (fig. 11.2 et 11.3) : chacun possède une constriction primaire, un kinétochore et deux télomères.

À la télophase, les chromosomes perdent leur structure par désépilation, les kinétochores disparaissent.

Fig. 11.2

Modification morphologique des chromosomes au cours du cycle cellulaire.

Pendant l'interphase, les chromosomes sont dés spiralés. Pendant la phase G1, chaque chromosome est représenté par une fibre nucléosomique. Après la phase S (phase de réplication), chaque chromosome est constitué par deux fibres nucléosomiques associées par un centromère. Le chromosome métaphasique a une longueur comprise entre 3 et 10 μm . Chaque chromosome comprend deux chromatides séparés par un espace clair et uni par le centromère. Sa structure est symétrique par rapport à un plan passant par le kinétochore et parallèle aux chromatides. Chaque chromatide a la forme d'un cylindre intensément coloré par la réaction de Feulgen. Elles sont visibles en contraste de phase. Le chromosome anaphasique : à la fin de la métaphase, les chromatides de chaque chromosome se séparent par division verticale du centromère. Le chromosome est devenu monochromatidien. Chaque chromosome migre vers un des pôles de la cellule. Le chromosome télophasique : les chromosomes sont réunis aux deux pôles de la cellule : ils perdent leur structure par dés spiralisation de la fibre nucléosomique.

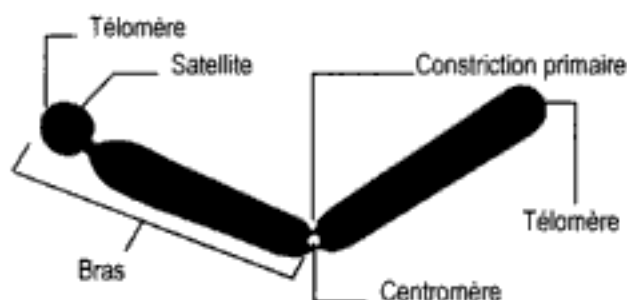
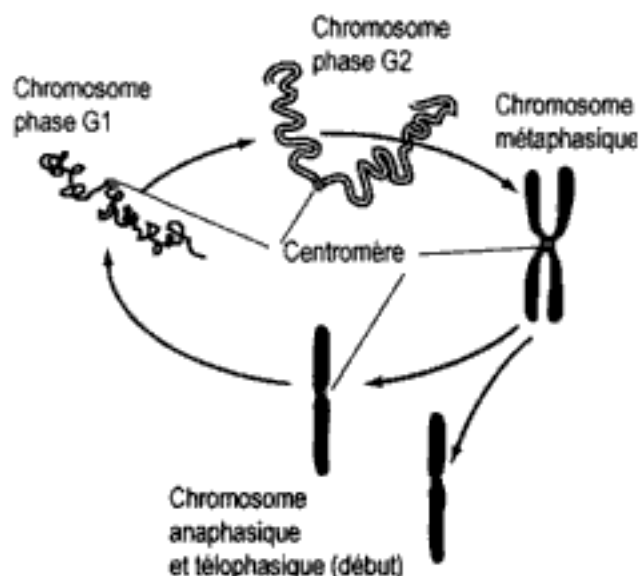


Fig. 11.3

Morphologie d'un chromosome anaphasique.**IV. Organisation moléculaire des chromosomes mitotiques**

L'organisation des chromosomes est relativement mal connue. On sait que la fibre nucléosomique condensée d'un diamètre de 30 nm décrit des solénoïdes rendus solidaires par l'histone H1.

Cette fibre décrit des boucles inégales formant successivement une fibre de 300 nm de diamètre. Elle se compacte à nouveau pour atteindre un diamètre de 700 nm qui correspond approximativement au diamètre du chromosome.

Les chromosomes contiennent non seulement de l'ADN et des histones mais également des protéines non histones (fig. 11.4).

Les protéines non histones entrent dans la constitution de la charpente nucléaire sur laquelle sont fixées, pendant l'interphase, des boucles de chromatine. Lorsque les chromosomes se compactent, cette charpente est incorporée dans les chromosomes et constitue alors la charpente chromosomique : elle représente environ 1/3 de la masse chromosomique. Dans ce modèle en boucles, les boucles d'ADN possèdent des sites de liaisons qui se fixent spécifiquement sur la matrice nucléaire (pendant l'interphase) ou sur la charpente des chromosomes mitotiques (pendant

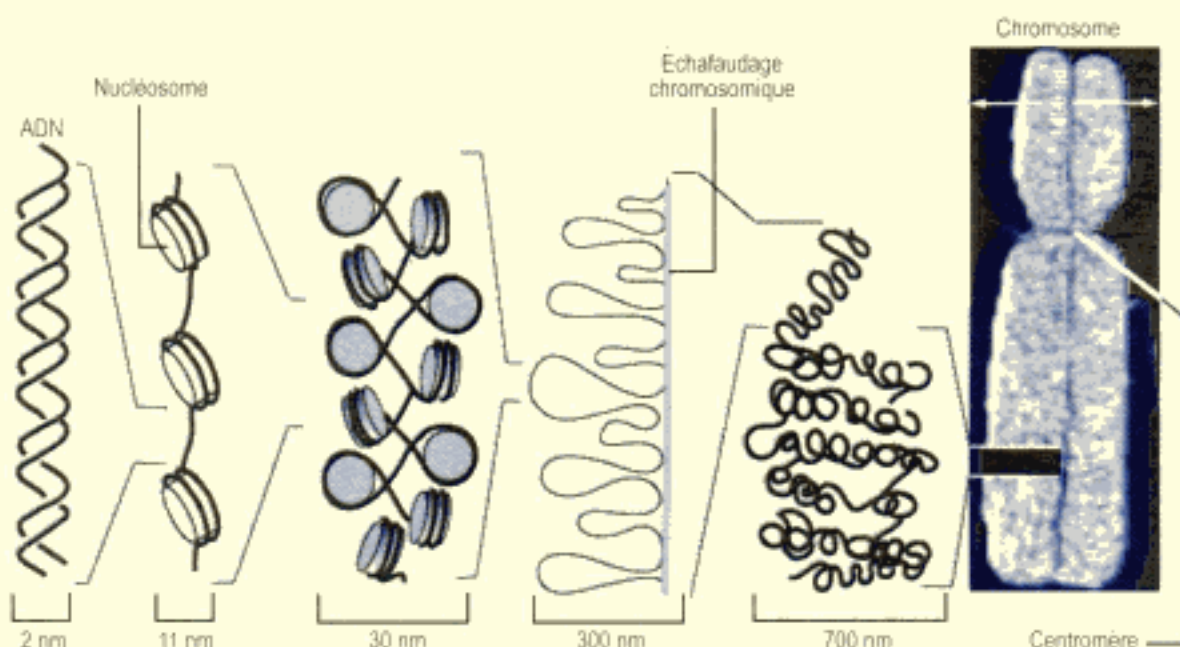


Fig. 11.4

Chromosome métaphasique.

Les chromosomes sont constitués par un enroulement de boucles nucléosomiques associées à un échafaudage constitué par des protéines non histones.

Redessiné d'après Roberts et Lodish.

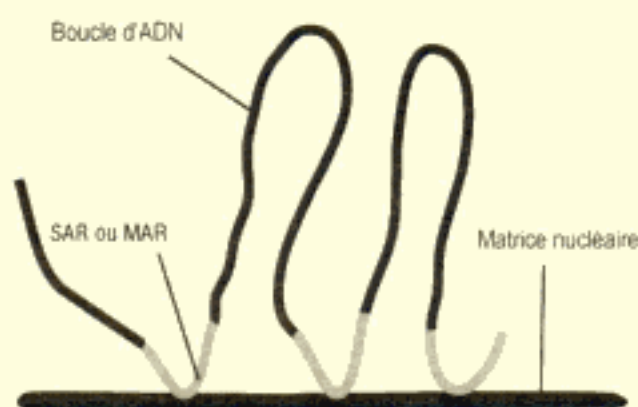


Fig. 11.5

Sites de liaison de l'ADN sur la charpente nucléaire.

Les SAR ou MAR sont des séquences spécifiques d'ADN qui sont fixées sur la matrice nucléaire ou sur la charpente et qui, lors du compactage des chromosomes, constituent l'échafaudage chromosomique.

la phase M). Ces sites de liaisons sont désignés par SAR ou MAR (fig. 11.5). Les gènes sont situés dans les boucles, entre les SAR ou MAR. Les SAR/MAR possèdent une structure légèrement différente qui dépend de la présence de nombreuses séries d'adénine ou de thymine. Rappelons que l'ADN est une double hélice qui possède deux sillons : un sillon majeur et un petit sillon. Les SAR/MAR possèdent un petit sillon rétréci.

V. Les centromères

A. Définition

Le centromère est une région d'un *chromosome eucaryote* qui occupe la *constriction primaire*. Il est constitué par un ADN caractérisé par de longues séquences *monotones*, répétitives en tandem. Sa fonction essen-

tielle est d'intervenir dans la ségrégation correcte des chromosomes homologues au cours de la mitose et de la méiose. C'est dans cette région que s'assemble le *kinétochore*, une sous-unité du centromère, responsable au cours de la mitose et de la méiose de l'accrochage bipolaire des chromosomes au fuseau en cours de formation, du rassemblement des chromosomes au niveau de la plaque équatoriale, de la séparation simultanée des chromatides sœurs par destruction d'une glu moléculaire et de leur mouvement au cours de l'anaphase.

B. Domaine centromérique

Le *domaine centromérique* correspond à la *constriction primaire* du chromosome métaphasique. L'activité du centromère est associée à l'hétérochromatine centromérique (domaine centromérique). La chromatine des centromères est constituée par une *hétérochromatine constitutive* : elle n'est pas transcrite et sa condensation persiste pendant tout le cycle cellulaire.

L'ADN centromérique a la particularité de fixer des protéines spécifiques, dont certaines servent de sites d'attachement aux microtubules. L'ADN qui constitue ces domaines est qualifié d'*ADN satellite*.

L'*ADN satellite* est un ADN des cellules eucaryotes. Il est constitué par de courtes séquences d'ADN hautement répétitives en tandem : sa composition moyenne en bases et sa densité évaluée par ultracentrifugation sont différentes de l'ensemble de l'ADN du génome. *Il n'est pas transcrit*. L'ADN satellite est séparé du reste de l'ADN génomique par centrifugation en gradient de densité. Les séquences de cet ADN satellite sont désignées par le sigle *CEN* (centromère). Ces séquences sont autonomes. Elles diffèrent en fonction de l'espèce. Leur insertion dans un plasmide permet sa migration au cours de la mitose. Les mieux connues sont chez *S. cerevisiae* et *Schizosaccharomyces pombe*.

Ces séquences *CEN* caractérisent le site de liaison des protéines du *kinétochore*.

1. Chez les eucaryotes unicellulaires

En fonction de la longueur de l'ADN centromérique, les centromères sont classés en centromère *ponctuel* et centromère *régional*.

2. Centromères ponctuels

Les cellules de la levure de bière *S. cerevisiae* comprennent 16 chromosomes dont la taille maximum est de 1 000 000 pb. Les régions CDE I et CDE III (*Centromere DNA Element* ; élément d'ADN du centromère) qui totalisent 125 pb sont suffisantes pour que le centromère puisse assurer sa fonction de ségrégation du chromosome auquel elles appartiennent.

3. Centromères régionaux

Schizosaccharomyces pombe possède trois chromosomes 2 à 13 fois plus longs que les chromosomes de *S. cerevisiae*. Les centromères sont plus volumineux et possèdent une organisation beaucoup plus complexe que ceux de *Saccharomyces cerevisiae*. Ils sont constitués par 110 kb. Les gènes de *S. pombe* sont réprimés comme ceux de nombreux eucaryotes supérieurs. L'inhibition de la répression par mutation d'un gène modifie

l'activité du centromère. Une activation épigénétique de l'ADN centromérique est nécessaire au fonctionnement du centromère. Le centromère chez la drosophile a une longueur de 420 kb.

4. Chez les métazoaires

Chez les eucaryotes multicellulaires, les séquences d'ADN, qui donnent au centromère sa fonction complète, sont difficiles à identifier. Cela est vraisemblablement dû à l'organisation très complexe des centromères chez les eucaryotes supérieurs et en particulier chez les vertébrés. Ainsi, le chromosome 21, dont on parle souvent à cause du mongolisme (trisomie 21 ou maladie de Down), possède 40 millions de bases puriques et pyrimidiques : son domaine centromérique comprend vraisemblablement au moins 5 millions de paires de bases.

L'ADN *satellite* du centromère est caractérisé par de longues séquences monotones répétitives en tandem : chaque séquence comprend 170 nucléotides répétés environ 3 000 fois. Ces séquences peuvent être isolées de la totalité du génome, en morcelant l'ADN en fragments de quelques centaines de nucléotides.

Chez l'Homme, 5 % environ du génome constituent le satellite α qui est le principal ADN satellite des domaines centromériques. Le satellite α peut occuper la totalité du domaine centromérique. Il varie quantitativement d'une manière extrêmement importante entre les divers chromosomes. Le satellite du centromère du chromosome 7 comprend 5 millions de pb et celui du chromosome Y 300 000 pb.

La fonction du centromère est associée aux répétitions de l'ADN satellite. L'introduction de ces répétitions dans un chromosome artificiel provoque l'assemblage de structures, qui aboutit à la formation d'un kinétochore actif. Ces séquences répétitives d'ADN satellite constituent un élément suffisant pour constituer un centre d'assemblage du kinétochore.

C. Protéines centromériques

1. Chez *Saccharomyces cerevisiae*

Les séquences d'ADN CEN chez la levure fixent les protéines, une trentaine, et les assemblent pour constituer le kinétochore. Ces protéines sont liées à l'ADN du centromère par des facteurs de liaison CBF (*Centromere-Binding Factor* ; facteur de liaison aux centromères).

2. Chez les mammifères

Quelques protéines centromériques (*CENP* : *Centromere Protein* ; protéine centromérique) ont été caractérisées chez les mammifères :

- la protéine *CENP-A* (17 kDa), qui contient un domaine carboxyterminal identique à 62 %, à celui de l'histone H3 ; ce domaine est nécessaire pour le ciblage de la protéine *CENP-C* au centromère ; elle est située dans la plaque interne du kinétochore et n'existe que dans les centromères actifs ;
- la protéine *CENP-B* (65 kDa), qui varie quantitativement d'un chromosome à un autre ; *CENP-B* est présente dans les centromères stables des autosomes dicentriques, actifs et inactifs. Elle est distribuée dans la totalité du centromère. *CENP-B* est un composant invariant du kinétochore. Elle interviendrait dans la condensation de l'ADN ;

- la protéine *CENP-C* (107 kDa), qui est constante sur tous les chromosomes ; elle est située dans la couche interne du kinétochore. Elle n'est pas détectable dans les centromères inactifs. *CENP-C* est nécessaire à l'assemblage du kinétochore et au maintien de son état fonctionnel, c'est-à-dire de son aptitude à se lier aux MT. Elle intervient dans l'assemblage du kinétochore et dans son activité fonctionnelle. Les anticorps anti-*CENP-C* entraînent l'arrêt de la mitose : les kinétochores ne possèdent plus leur structure habituelle ;
- la protéine *CENP-F*, localisée dans tout le noyau au cours de la phase G2. Au cours de la prophase, elle se localise dans tous les kinétochores, au niveau de la surface externe de la plaque externe, et disparaît des kinétochores à l'anaphase A pour se répartir dans la région moyenne du fuseau. À la télophase, elle se concentre dans une bande étroite, de chaque côté du corps intermédiaire.

D. Protéines centromériques passagères

Des protéines sont associées aux chromosomes uniquement pendant certaines phases de la division cellulaire. Ainsi l'association de la protéine *INCENP* (*Inner Centromere Protein* ; protéine interne du centromère), la protéine kinase *Aurora* et la *survivine*, pendant la prométaphase et la métaphase, ne persistent pas pendant toute la mitose. Ces molécules, au moment de la transition métaphase-anaphase, se fixent sur les MT interpolaire, puis, à la fin de la mitose, au moment de la cytodérèse, ces molécules se retrouvent dans le site de la cytokinèse.

La *survivine* est un des inhibiteurs de l'apoptose (*IAP* : *Inhibitor of Apoptosis Protein*). La *survivine* doit être phosphorylée par le complexe cycline B-Cdk1 pour pouvoir se lier à la caspase-9 et exercer son activité anti-apoptotique.

La kinase *Aurora* est dirigée vers ses points d'action par la protéine *INCENP*. Ces protéines passagères interviennent dans la phosphorylation de l'histone *H3* qui se produit au début du compactage des chromosomes, dans la liaison de la *condensine* aux chromosomes, la formation du fuseau mitotique et son maintien, la séparation des chromosomes au cours de l'anaphase et l'achèvement de la cytokinèse.

E. Séparation des centromères à la métaphase

La séparation des chromatides dépend de celle des centromères de chaque chromatide. Elle se produit grâce :

- à une population spécifique de *topo-isomérases II* associée au cycle cellulaire ; le centromère se distingue du reste du chromosome par la quantité élevée de *topo-isomérases*, qui décroît après la séparation des chromatides ; ces *topo-isomérases* agissent sur les zones d'attachement de l'ADN satellite ;
- à la dégradation de la cohésine.

VI. Le kinétochore

A. Définition

Le kinétochore est un complexe macromoléculaire dont la fonction est de guider la migration des chromosomes pendant la mitose ou la méiose. Il

s'assemble sur les deux faces du centromère de chaque chromosome. Il sert de lien entre les MT du fuseau.

Les kinétochores, centres de nucléation des MT, contrôlent la position des chromosomes sur le fuseau mitotique, stabilisent les MT kinétochoriens en coiffant leur extrémité positive et participent directement au point de contrôle de l'assemblage du fuseau (voir chapitre 12, p. 307).

B. Structure en MET

Le kinétochore des vertébrés est habituellement une structure trilamellaire. Il est formé par :

- une *plaque externe* ou corona (couronne) bien définie ; c'est un complexe épais de 35 à 40 nm, contenant des fibres de 10 à 20 nm de diamètre qui courent presque perpendiculairement à l'axe longitudinal du chromosome ;
- une *plaque moyenne*, transparente au rayonnement électronique, traversée par des fibres parallèles qui unissent la plaque externe et la plaque interne ;
- une *plaque interne* mal définie, intimement liée à la constriction primaire sous-jacente ; elle est séparée de la plaque externe par un espace, mais associée à la plaque externe par les fibres émanant de la plaque externe.

C. Mise en évidence des protéines kinétochoriennes

Les sujets atteints de *sclérodémie*, une maladie rare, grave, caractérisée par une fibrose du tissu conjonctif du derme et de divers organes, élaborent des autoanticorps *anti-protéines kinétochoriennes*. Ces autoanticorps, associés à une substance fluorescente, colorent spécifiquement certaines protéines kinétochoriennes. Ils révèlent ainsi la présence d'un kinétochore par chromosome au cours de la phase G1, de deux kinétochores au cours de la phase G2 et de la métaphase.

D. ADN centromérique, charpente du kinétochore

L'ADN centromérique forme l'épine dorsale structurale du kinétochore, sur laquelle les protéines spécifiques du kinétochore se lient directement ou indirectement.

E. Moteurs moléculaires associés aux kinétochores

Plusieurs moteurs moléculaires sont localisés dans les kinétochores (fig. 11.6). Il s'agit :

- de la *dynéine cytoplasmique* localisée dans la couronne (corona) ;
- des KRP (*Kinesin-Related Proteins* ; protéines apparentées à la kinésine) ;
- de *CENP-E* : CENP-E est une protéine (312 kDa) qui s'accumule au cours de la phase G2 du cycle cellulaire. Elle s'associe aux kinétochores au cours de la formation de la plaque équatoriale, pendant l'anaphase A, et disparaît à la fin de la division cellulaire. CENP-E est un moteur responsable, chez les mammifères, des mouvements chromosomiques et/ou de l'allongement du fuseau. CENP-E est, comme la dynéine, localisée dans la région la plus externe du kinétochore ;

- de MCAK (90 kDa) qui est un membre de la superfamille KIF2 (*Kinesin superfamily Factor* ; facteur de la superfamille de la kinésine) ; elle se déplace vers l'extrémité positive des MT. MCAK est localisée dans la couche externe des kinétochores.

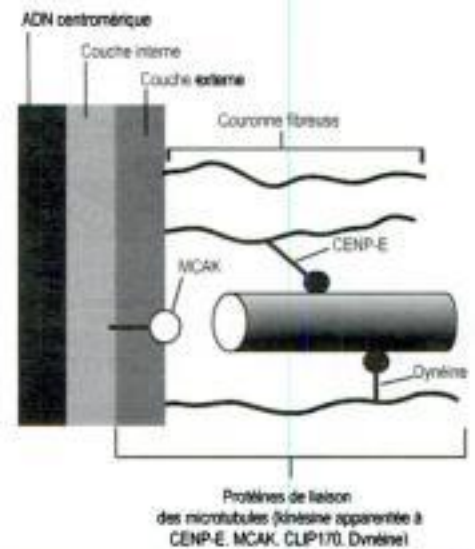


Fig. 11.6
Structure d'un kinétochore.

F. Fonctions des kinétochores

Les kinétochores agissent sur le point de contrôle de la phase M (voir chapitre 12, p. 307). En effet, ils provoquent la formation d'un signal inhibiteur, bloquant la transition métaphase/anaphase lorsqu'ils ne sont pas associés à un MT ou lorsque la tension MT/kinétochore est insuffisante (voir mitose).

Ils fixent les chromosomes aux microtubules.

Ils interviennent dans le déplacement des chromosomes à la métaphase et pendant l'anaphase.

POINTS CLÉS

- Le chromosome des cellules eucaryotes est le support morphologique de l'information génétique. Sa structure subit d'importantes modifications morphologiques au cours du cycle cellulaire. Décompactée pendant l'interphase, la fibre nucléosomique qui les constitue se dédouble pendant la phase S (phase de réplication). Les deux fibres nucléosomiques sont réunies par un centromère. Au cours de la phase G2, juste avant la division cellulaire, les chromosomes se condensent grâce à la kinase Aurora et aux condensines. Dès le début de la mitose, les fibres nucléosomiques sont fortement condensées autour de protéines non histones.
- Les centromères, situés au niveau de la constriction primaire des chromosomes, sont des régions particulières de l'ADN caractérisées par des longues séquences nucléotidiques, répétitives en tandem. L'ADN centromérique, non transcrit, fixe des protéines du kinétochore.
- Le kinétochore contient des protéines motrices (dynéine cytoplasmique, KRP et CENP-E) : il se lie aux microtubules du fuseau mitotique.

ENTRAÎNEMENT

QCM

1. La condensation des chromosomes

- ☐ A. Commence en prophase.
- ☐ B. L'ADN s'enroule autour d'un axe protéique.
- ☐ C. La condensine intervient dans la formation des chromosomes.
- ☐ D. Est un processus nécessitant la phosphorylation d'histones.
- ☐ E. Les bases puriques sont méthylées.

2. Le chromosome mitotique

- ☐ A. Le centromère correspond au point de réunion des deux chromatides.
- ☐ B. Les chromatides ont un diamètre constant.
- ☐ C. Le centromère est toujours situé au milieu du chromosome.
- ☐ D. Les protéines de type non histone sont majoritaires dans le chromosome.
- ☐ E. Lors de la mitose, les deux chromatides ont la même taille.

3. Le centromère

- ☐ A. L'ADN centromérique est de l'hétérochromatine constitutive.
- ☐ B. L'ADN centromérique (séquences CEN) est spécifiques de chaque espèce.
- ☐ C. Les séquences CEN codent pour les protéines du centromère.
- ☐ D. Chez les vertébrés, le centromère comporte des séquences hautement répétées.
- ☐ E. La composition en protéines varie selon les phases de la mitose.

4. Le kinétochore

- ☐ A. A un rôle de MTOC.
- ☐ B. A un aspect bilamellaire en microscopie électronique.
- ☐ C. Il en existe un par chromatide.
- ☐ D. Contient de la dynéine.
- ☐ E. Contient de la kinésine.

Pour les corrections, se reporter à la page 584

Le cycle cellulaire

- I. Définition**
- II. Les facteurs de croissance**
- III. La régulation du cycle cellulaire**
- IV. L'interphase**
- V. La phase M**
- VI. L'apoptose**

Jusqu'en 1950, les biologistes ne disposaient d'aucune information sur l'interphase, c'est-à-dire la période séparant deux mitoses. L'autohisto-radiographie et les techniques de synchronisation des cellules en culture, qui permettent de disposer de cellules se divisant en même temps, ont considérablement facilité l'étude du métabolisme au cours de l'interphase.

L'utilisation, sur des cultures synchronisées, des techniques d'autohisto-radiographie (Howard et Pec, 1953) montre que la réplication de l'ADN ne se déroule pas, comme on le croyait, pendant la prophase, mais pendant une période limitée de l'interphase. Le modèle de Howard et Pec, qui décompose l'interphase en un stade antérieur à la synthèse de l'ADN (G1), un stade de synthèse de l'ADN (S) et un stade séparant cette synthèse de l'entrée en prophase (G2), est toujours admis. Cette notion de cycle cellulaire est essentielle en pathologie et en thérapeutique : en particulier, l'efficacité d'une chimiothérapie anticancéreuse dépend du moment où elle intervient dans le cycle cellulaire.

Les expériences faites sur les œufs de xénope démontrent qu'il existe un facteur qui déclenche la mitose. L'ovocyte de premier ordre reste bloqué en prophase de la première division méiotique (prophase I). C'est la progestérone qui permet à cet ovocyte de poursuivre la méiose. Il achève alors la première division, réalise le début de la deuxième division méiotique et reste bloqué en métaphase (métaphase II) de cette deuxième division. C'est l'étape de maturation. L'injection, dans un ovocyte de premier ordre, d'un fragment de cytoplasme de cet ovocyte en métaphase II, déclenche sa maturation. Ce facteur est appelé facteur de promotion de la maturation ou MPF (*Maturation Promotion Factor*). On découvre rapidement que le MPF agit également dans le déclenchement des mitoses somatiques.

Cette première découverte d'un facteur contrôlant la mitose est à l'origine de notre connaissance de la complexité et de la diversité des molécules qui interviennent dans la régulation du cycle cellulaire.

Hidden page

- *FGF* : les FGF interviennent non seulement dans la croissance des fibroblastes, mais également dans celle des cellules endothéliales et des myoblastes. Les récepteurs des facteurs de croissance des fibroblastes sont une famille de protéines à tyrosine kinase.

III. La régulation du cycle cellulaire

La régulation du cycle cellulaire a deux fonctions essentielles :

- le *maintien de l'ordre* rigoureux des phases et le contrôle précis des *phases de transition* (G1/S, G2/M) qui dépend principalement des *protéines CDK* et des *cyclines* ;
- la *surveillance de mécanismes* fondamentaux qui conditionnent la vie cellulaire comme :
 - la qualité de l'ADN, le *maintien* du patrimoine génétique, de l'exactitude de la réplication de l'ADN et de la *prolifération cellulaire*,
 - l'achèvement de la réplication, la position des chromosomes,
 - cette surveillance est exécutée au niveau des *points de contrôle*.

Les mécanismes de régulation sont étudiés, ci-dessous, pour chacune des phases du cycle cellulaire.

A. Familles de protéines qui contrôlent le cycle

La régulation et la surveillance dépendent de l'interaction de plusieurs familles de protéines : les *protéines Cdk* (*Cyclin-dependant protein kinases* ; kinases cyclines-dépendantes), les *cyclines*, les *protéines CKI* (*Cyclin-dependant protein Kinases Inhibitors* ; inhibiteurs des protéines kinases dépendantes des cyclines).

1. Cdk

a. Définition

Les *Cdk* sont des *sérine-thréonine kinases* activées lorsqu'elles sont *liées à une cycline*. Dans ce cas précis, elles interviennent dans la progression de la cellule au cours du cycle (passage d'une phase à une autre) ou à l'occasion de certains événements du cycle (compactage des chromosomes, fragmentation de l'enveloppe nucléaire, etc.). Les *Cdk* catalysent la *phosphorylation* de la *sérine* ou une *thréonine* des protéines cible qui jouent un rôle dans le déroulement du cycle cellulaire. Ces protéines possèdent une séquence (S/T-P-R/K soit sérine/thréonine-proline-arginine/lysine) reconnue par *Cdk*.

b. Activation des Cdk

Contrairement aux levures (*Saccharomyces pombe* et *cerevisiae*) qui ne produisent qu'une seule kinase cycline-dépendante, les cellules des *mammifères* possèdent une famille de *Cdk* qui intervient dans la progression du cycle cellulaire. Ces *Cdk* sont les *Cdk 1, 2, 4 et 6*.

► Molécules activatrices de Cdk

Les *Cdk* sont *activées* par les *cyclines*, par *Cdc25*, une phosphatase qui est responsable des déphosphorylations activatrices, et par *CAK* (*Cyclin-dependant Activating Kinase* ; kinase cycline-dépendante). *CAK* phospho-

ryle la thréonine 161, modifiant ainsi la forme de Cdk et rendant ainsi accessible le site de reconnaissance des protéines régulatrices.

► Structure de Cdk et activation

L'activation dépend de la conformation de la molécule Cdk. En effet, toutes les Cdk possèdent deux sites de reconnaissance : un pour les protéines régulatrices (site actif) et un site de liaison de l'ATP. Lorsque Cdk est inactivée, ces sites sont inaccessibles, car deux boucles composées d'acides aminés s'opposent à la fixation des protéines régulatrices et de l'ATP. La *boucle PSTAIRE* (proline-sérine-thréonine-alanine-isoleucine-arginine-acide glutamique) est orientée de telle manière que l'ATP ne peut se fixer et la *boucle T* empêche l'accès des protéines régulatrices à la thréonine 161 (située au sommet de la boucle T) ainsi qu'à la thréonine 14 et la tyrosine 15.

La *liaison avec la cycline* rend ces régions accessibles : la boucle T se déplace, ouvrant ainsi l'accès aux protéines régulatrices, et la boucle PSTAIRE subit une rotation. Cette rotation permet aux phosphates de l'ATP de s'aligner : une telle disposition permet le transfert du phosphate sur la protéine cible (fig. 12.2).

La concentration des *cyclines*, avec lesquelles les Cdk se lient, présente des pics au cours du cycle si bien qu'elles sont activées ou désactivées de façon périodique.

c. Inactivation des Cdk

Les Cdk sont inactivées par :

- les *CKI* qui regroupent les protéines p16, 21 et 27. Les protéines inhibitrices CKI se classent en deux catégories, en fonction de leur mode d'action ; les membres de la *famille p16* (p16, p15, p18 et p19) entrent en compétition avec les cyclines pour leur liaison aux Cdk tandis que ceux de la *famille p21* (p21, p27 et p57) bloquent la fixation de l'ATP : elles déforment le site actif de Cdk et s'insèrent aussi dans le site de Cdk (fig. 12.3) ;
- *Wee*, une kinase, découverte chez la levure *Saccharomyces pombe*. Si la kinase *Wee* est défectueuse, la levure se divise trop tôt alors qu'elle n'a pas atteint sa taille normale d'où *Wee* qui signifie petit (en écossais). *Wee* est responsable d'une *phosphorylation inactivatrice* car, en phosphorylant la thréonine 14 et la tyrosine 15, elle induit une répulsion électrostatique qui refoule l'ATP.

2. Cyclines

a. Définition

Les cyclines sont des polypeptides qui jouent un rôle indispensable à la progression du cycle cellulaire en association avec les protéines Cdk. Elles sont désignées par les lettres A, B, D et E, désignation sans rapport avec les phases au cours desquelles elles interviennent.

Le terme « cycline D », utilisé dans ce texte, désigne les trois types de cyclines D qui sont synthétisées par les cellules humaines et dont la quantité varie d'un type cellulaire à un autre.

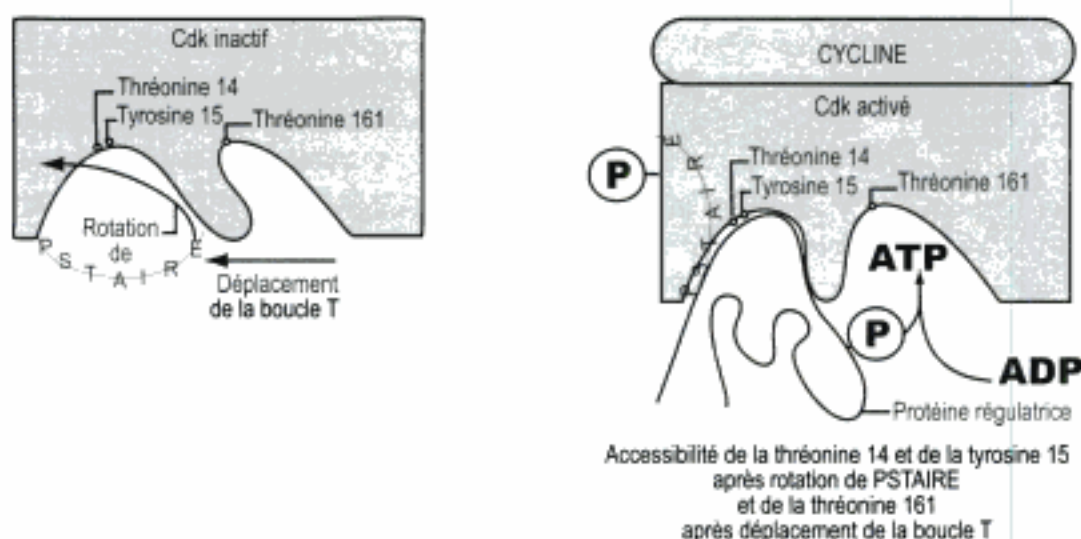


Fig. 12.2

Schéma général de l'activation des Cdk par une cycline.

La liaison de la cycline avec Cdk active Cdk en rendant accessible la thréonine 14 et la tyrosine 15 après rotation de PSTAIRE et la thréonine 161 après déplacement de la boucle T. La combinaison d'une cycline active en rendant ses sites accessibles.

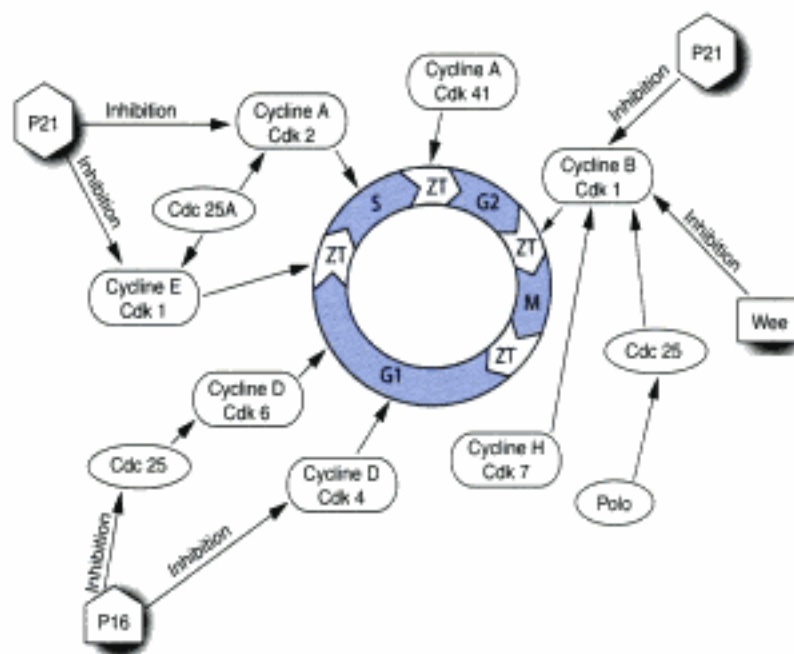


Fig. 12.3

Inhibition des complexes cycline-Cdk.

Modifié d'après M.-C. Lebart, J. Mariani et G. Furelaud.

Le complexe cycline H-Cdk 7 est habituellement désigné par CAK. ZT : zone de transition.

b. Propriétés et fonctions

Les cyclines ne possèdent *pas d'activité enzymatique*. Leur principal rôle est d'activer les protéines Cdk en formant des complexes avec elles. Les cyclines sont des polypeptides dont l'expression est cyclique : leur concentration varie au cours du cycle cellulaire. Elles possèdent une séquence d'acides aminés (appelée boîte de dégradation ou *degradation*

box) qui est reconnue par les protéines DBRP (*Degradation Box Recognition Proteins* ; protéines de reconnaissance de la boîte de dégradation). Cette protéine permet la *polyubiquitinylation* des cyclines qui sont reconnues et détruites par les *protéasomes*.

La phosphorylation des complexes cycline/Cdk peut être inhibitrice ou activatrice en fonction des acides aminés de Cdk qui sont phosphorylés. Les complexes cycline/Cdk sont *inhibés* par la phosphorylation de la tyrosine 15 et la thréonine 14 qui dépend des kinases Wee et Myt 1, mais ils sont *activés* par la phosphorylation de la thréonine 161 par CAK.

L'inhibition de l'activité des complexes par des protéines inhibitrices peut se produire au cours d'une phase quelconque.

c. Complexes cycline/Cdk au cours du cycle

Chaque *phase* du cycle est marquée par l'action de complexe cycline/Cdk (fig. 12.4).

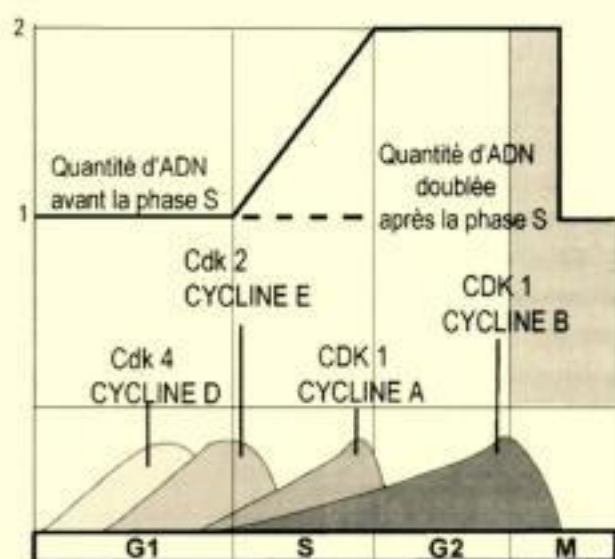


Fig. 12.4

Les cyclines au cours du cycle cellulaire.

Ce schéma simplifié ne mentionne qu'une partie des complexes intervenant au cours du cycle cellulaire. La quantité d'ADN nucléaire double au cours de la phase S. Les variations quantitatives des cyclines sont représentées par des courbes (bas du schéma).

Au cours de la *phase G1*, les complexes *cycline D/Cdk4* et *cycline D/Cdk6* inactivent par phosphorylation la protéine Rb (*Retinoblastoma protein* ; protéine du rétinoblastome) qui libère E2F (*Elongation 2 Factor* ; facteur d'élongation 2), facteur qui permet la transcription des gènes codant pour les molécules nécessaires, en particulier la cycline E indispensable à la phase de transition G1/S et la cycline A pour la phase S.

Au cours de la *phase de transition G1/S*, le complexe *cycline E/Cdk2* inactive la protéine Rb (voir encadré page 317) en la phosphorylant.

Au cours de la *phase S*, le complexe *cycline A/Cdk1* déclenche l'arrêt de la lyse de la cycline B et provoque donc son accumulation.

Au cours de la *phase transition G2/M*, le complexe *cycline B/Cdk1* assure la phosphorylation de divers substrats responsables de l'évolution de la division cellulaire.

B. Points de contrôle du cycle cellulaire (fig. 12.5)

Ils contrôlent chacun une phase de transition (G1/S, G2/M, métaphase-anaphase).

Hidden page

Hidden page

mécanismes contrôle la cellule et l'oriente soit vers un nouveau cycle cellulaire, soit vers l'arrêt du cycle en entrant en *phase G0*.

Les cellules ne se divisant plus, temporairement ou définitivement, *in vivo* ou *in vitro*, demeurent dans une phase précédant l'initiation de la synthèse d'ADN qui se déroule pendant la phase S. Ces cellules sont « bloquées » à une phase qualifiée de *G0* afin de les différencier des cellules en phase *G1* qui entrent en phase S.

2. Durée

La phase *G1* n'existe pas lors des premières divisions qui suivent la fécondation. Elle apparaît relativement tôt au cours du développement embryonnaire.

D'une manière générale, la phase *G1* est la phase dont la *durée* est la *plus variable* : elle dépend de la nature de la cellule (en général de 1 heure chez l'embryon à 6 mois, approximativement 1 an dans le foie chez les mammifères). Sa durée diminue sensiblement pour les cellules cancéreuses.

3. Fonctions

La cellule en phase *G1* contient la quantité d'ADN caractéristique de l'espèce, correspondant dans les cellules somatiques à $2N$ chromosomes (par exemple 23×2 , soit 46 dans l'espèce humaine) ; cette quantité reste constante pendant toute la phase *G1*.

Les mécanismes, qui contrôlent la croissance et la différenciation chez les êtres multicellulaires, sont liés à la machinerie de la phase *G1*.

La *phase G1* joue un rôle essentiel dans la régulation du cycle cellulaire :

- la *cellule contrôle* son environnement et sa propre taille qui double avant la phase S. Le passage de la phase *G1* à la phase S est décisif, car il engage, de façon irréversible, la cellule dans le processus qui conduit à la division (normale ou pathologique). Il dépend d'un point dénommé *START* chez la levure, point de restriction (*R*) dans les cellules des vertébrés. Ce point de restriction marque une limite. Avant lui, les facteurs de croissance sont nécessaires pour que la cellule progresse dans le cycle ; après lui les cellules prolifèrent indépendamment des incitations mitogéniques ;
- la phase *G1* est une *phase de synthèse*, au cours de laquelle la réplication de l'ADN ne se produit pas. Les cellules viennent de se diviser : leur volume cytoplasmique est faible. La cellule synthétise donc des molécules d'ARN (ARNm, ARNr, ARNt) et assure la production des protéines nécessaires à l'accroissement de la cellule. Durant cette phase, chaque chromosome est formé d'une molécule d'ADN (double hélice) associée aux histones ;
- les *réparations de l'ADN* se déroulent au cours de cette phase : il convient de noter que l'ADN est également réparé au cours des phases *G2* et au cours de la prophase (les corrections sur épreuves ont lieu pendant la phase S).

4. Chromosomes au cours de la phase *G1*

Ils sont constitués, chacun, par une fibre nucléosomique dont le degré de compactage varie en fonction des régions d'ADN qui sont transcrites. Ils

Hidden page

L'inactivation de pRb libère E2F : E2F libéré active l'expression des gènes codant pour les cyclines de la phase S, les cyclines E et A qui sont inactivées immédiatement par leurs inhibiteurs nommés CKI.

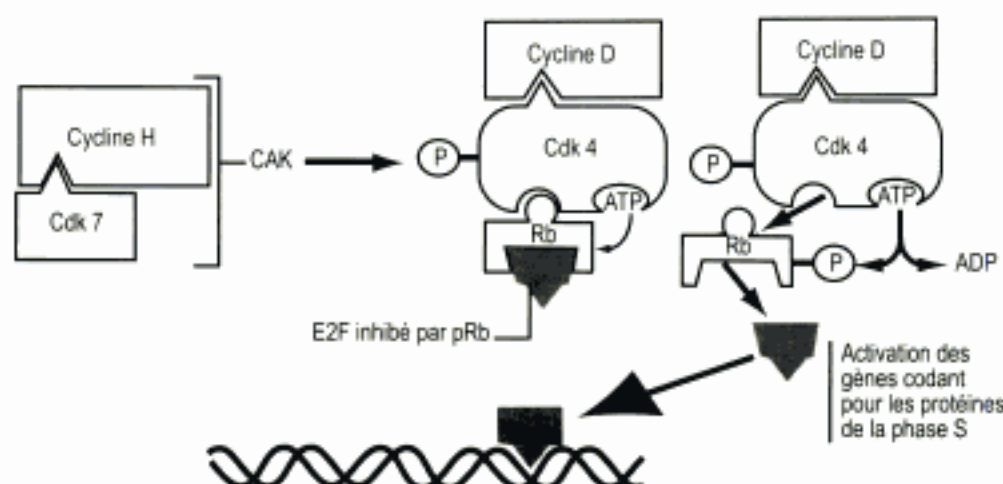


Fig. 12.7

Activation du complexe cycline D/Cdk4.

Phosphorylation activatrice du complexe cycline D/Cdk4 par CAK. La phosphorylation de Rb libère E2F qui active les gènes codant pour les protéines de la phase S et en particulier la cycline E et la cycline A.

La protéine Rb

- La protéine Rb non phosphorylée inhibe la protéine E2F (*Early 2 Factor* ; facteur précoce 2). La protéine Rb est une phosphoprotéine de 105 kDa. L'absence ou la mutation du gène codant cette protéine est à l'origine du rétinoblastome, une tumeur maligne de la rétine chez l'enfant.
- E2F est le facteur de transcription du gène de la cycline E, transcription qui s'effectue pendant la phase S.
- L'inhibition de E2F dépend de sa liaison avec la protéine Rb. E2F est lié à une sous-unité DP1 et forme un hétérodimère E2F-DP1. Cet hétérodimère s'associe avec Rb non phosphorylée. Le complexe E2F-DP1-pRb se fixe sur la région promotrice des gènes habituellement régulés par E2F. La Rb du complexe recrute des histones désacétylases qui, en désacétylant les histones de l'ADN de la région promotrice, provoquent le compactage de l'ADN rendant impossible la transcription par l'ARN polymérase II, si bien que la synthèse de la cycline n'est pas possible.
- Le complexe cycline D/Cdk4 phosphoryle Rb. Cette phosphorylation libère E2F, le facteur de transcription du gène de la cycline E. Au début de la phase G1, cycline D-Cdk4 a donc pour rôle principal, celui d'autoriser la transcription du gène de la cycline E qui intervient au cours de la phase S. Le complexe cycline E/Cdk2 peut donc se former.
- Le complexe cycline E/Cdk2 se constitue dès que la cycline E est synthétisée : il phosphoryle la protéine Rb qui, comme précédemment, activera E2F. Ainsi il se constitue une boucle de rétroactivation qui permet, à ce complexe, d'amplifier la synthèse de sa propre cycline.
- L'hyperphosphorylation de la protéine Rb provoque la libération d'un facteur E2F qui stimule la transcription du gène de la séquence suivante, la cycline A.

Hidden page

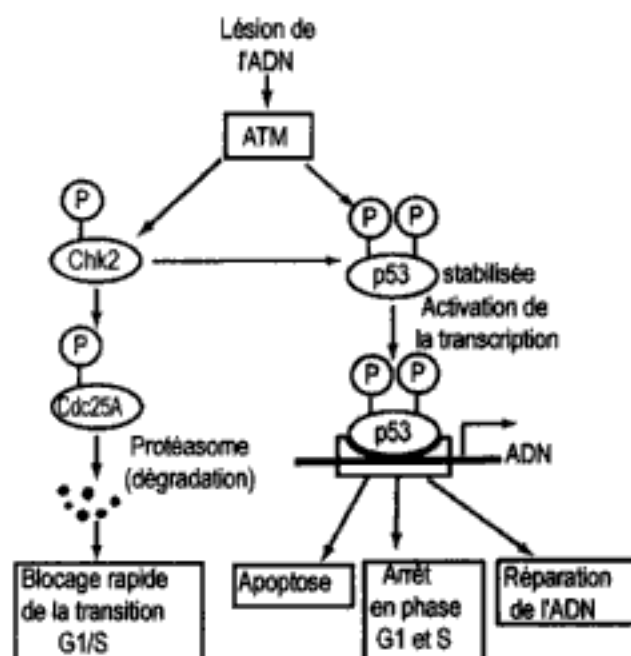


Fig. 12.9

Les voies de régulation activées par une altération de l'ADN.

Une altération de l'ADN active ATM qui agit sur Cdc 25 A : Cdc25 ne peut plus activer les complexes cycline A/Cdk1 et cycline E/Cdk2 et/ou déclenche la synthèse et l'accumulation de p53 qui, activée, peut déclencher l'apoptose (la mort cellulaire), l'arrêt de la progression de la cellule dans le cycle cellulaire ou la réparation de l'ADN.

La protéine ATM activée peut également induire la transcription de la protéine P53 qui s'accumule et induit soit l'apoptose, soit l'arrêt du cycle en phase G1 ou S, soit la réparation de l'ADN.

Si des protéines de détection découvrent une anomalie, même légère, de l'ADN, la transition G1-S est bloquée. Donc, schématiquement le blocage, conséquence d'une lésion de l'ADN, est dû :

- à l'inactivation de *Cdc25 A* qui ne peut plus activer les complexes cycline A/Cdk1 et cycline E/Cdk2 ;
- à la synthèse et à l'accumulation de *p53*.

► Protéolyse des inhibiteurs de complexes de la phase S

L'activité des complexes cycline/Cdk de la phase S (*cycline E/Cdk2* et *cycline A/Cdk2*) synthétisés pendant la phase G1 est neutralisée par CKI. En fin de phase G1, la phosphorylation de CKI par cycline E/Cdk2 induit la dégradation des inhibiteurs des complexes cycline/Cdk de la phase S en les phosphorylant et en stimulant leur polyubiquitinylation par SCF, une ubiquitine ligase, qui est synthétisée alors que la cellule est très proche de la transition G1/S. Les protéasomes dégradent ces inhibiteurs.

► Activation de Cdk2

La *phosphatase Cdc25* enlève le phosphate inhibiteur de Cdk2 (elle est dégradée, chez les mammifères, en réponse à une lésion de l'ADN afin d'empêcher la cellule d'entrer en phase S). Dès que cycline A/Cdk2 est activée par Cdc25 et que les inhibiteurs sont dégradés, les facteurs de réplication non phosphorylés s'assemblent précocement sur le site d'origine de la réplication afin de constituer un complexe de pré-réplication.

Hidden page

2. Caractères des cellules en phase G0

Les cellules en phase G0 sont caractérisées par l'absence de cycline. Le facteur *E2F* qui active l'expression des gènes codant pour des cyclines est maintenu inactif par *pRb*. Ce maintien en dehors du cycle cellulaire n'est pas définitif pour la majorité des cellules de l'organisme. Pendant la phase G0, les cellules assurent les fonctions imposées par leur différenciation. Des facteurs de croissance, mitogènes ou d'autres stimuli d'origine extra-cellulaire peuvent déclencher le retour au cycle cellulaire.

3. Retour d'une cellule en G0 dans le cycle cellulaire

Le facteur de croissance, reconnu par son récepteur situé dans la membrane plasmique, déclenche un ensemble de réactions intracellulaires qui aboutissent à l'activation de *Ras* : cette petite GTPase active une *MAP-kinase*, une protéine impliquée dans la signalisation de nombreux facteurs mitogènes ou de différenciation. Il en résulte une activation du gène *myc*, qui code pour une protéine *Myc*, un facteur de transcription. *Myc* se fixe sur le promoteur du gène de la cycline D, de *Cdk4* et 6 et déclenche sa transcription (fig. 12.10). Les cyclines E/*Cdk4* et 6 commencent à phosphoryler *Rb* qui libère de petites quantités d'*E2F* qui stimulent la transcription du gène codant pour la cycline E, *Cdk2* et *E2F* (autostimulation). Les complexes cycline D/*Cdk4* phosphorylent *Rb* qui libère de plus grandes quantités d'*E2F*, créant une boucle de rétroaction, position qui aboutit à une élévation rapide de l'expression et de l'activité à la fois d'*E2F* et de cycline E/*Cdk2*.

Les cellules regagnent le cycle avant le point de restriction.

Myc

► Virus de la myélocytoblastose. Famille d'oncogènes, dont les produits se localisent dans le noyau et qui jouent un rôle dans le cycle cellulaire. *Myc* intervient au cours de la phase S : elle est impliquée dans la transcription des gènes et se comporte comme un facteur de réplication et de transcription. Ce facteur de transcription active les gènes de nombreuses protéines impliquées dans la synthèse de l'ADN et des désoxyribonucléotides.

D. Phase S

1. Définition

La phase S (synthèse) est une phase courte, située entre la phase G1 et la phase G2, d'une durée d'environ 8 heures, au cours de laquelle se déroule la réplication de l'ADN. La quantité d'ADN nucléaire double au cours de cette phase : la cellule devient une cellule tétraploïde.

2. Activités de synthèse au cours de la phase S

a. Réplication de l'ADN

Au cours de la phase S, les complexes cycline/*Cdk* de la phase S (cycline A/*Cdk1* et cycline E/*Cdk2*) phosphorylent les composants du complexe de pré-réplication. L'œil de réplication se forme et la réplication commence.

Hidden page

ment accrue tandis que la dégradation de cet ARNm est beaucoup plus lente : la concentration en ARNm des histones augmente environ d'un facteur 50.

d. Synthèse de protéines

La plupart des protéines sont continuellement synthétisées pendant l'interphase et la prophase, tandis que les histones sont presque exclusivement synthétisées pendant la phase S.

Des facteurs qui interviendront au cours de la phase M sont synthétisés, en particulier les facteurs de condensation des chromosomes ou protéines SMC.

Les protéines SMC rappellent, par leur structure, celle de la kinésine et de la myosine. Il s'agit de protéines mécano-chimiques de la chromatine (protéines motrices de la chromatine). L'activité d'un tel moteur provoque l'enroulement de la chromatine et sa condensation qui se produira lors de la prophase.

Pendant la phase S, la duplication des centrioles fils, qui a commencé à la fin de la phase G1, se poursuit.

3. Corrections sur épreuve

Elles se produisent pendant cette phase, en même temps que la réplication.

4. Chromosomes en fin de phase S

Ils sont constitués par deux fibres nucléosomiques réunies par un centromère.

E. Phase G2

La phase G2 est une phase courte de 4 à 5 heures qui débute dès que la réplication de l'ADN est achevée. Pendant cette phase, la cellule contient le double de la quantité habituelle d'ADN : c'est une cellule tétraploïde. Cette phase prépare la mitose, en particulier la cellule synthétise des facteurs de condensation des chromosomes, les protéines SMC.

1. Cdc25, déclencheur de la transition G2/M

Cdc25 appartient à une famille de phosphatases qui comprend Cdc25A, Cdc25B et Cdc25C. Cdc25B et Cdc25C interviennent dans la transition G2/M, en particulier en activant cycline B/Cdk1.

2. Régulation de la transition G2/M

a. Point de contrôle en phase G2/M

Un mécanisme de contrôle, le point de surveillance G2/M, intervient avant l'activation du complexe *cycline B-Cdk1*.

Différents signaux, comme des ruptures de brins d'ADN, un arrêt de la fourche de réplication l'ADN, interrompent le cycle en phase G2 selon un processus semblable à celui du point de contrôle de la phase G1.

b. Rôle du complexe cycline B/Cdk1

Pendant les phases S et G2, le complexe *cycline B/Cdk1* ou *MPF* se constitue progressivement. L'entrée en division de la cellule est un phénomène qui apparaît brutalement.

Ce début particulièrement rapide d'apparition de l'activité du complexe est le résultat :

- de l'accumulation du MPF inactif (pré-MPF) ;
- de l'activation du pré-MPF ;
- de l'action de MPF.

Les courbes présentées montrent que pour les autres complexes, il existe de la même façon une accumulation.

► Accumulation du MPF inactif (pré-MPF)

La *cycline B1*, synthétisée pendant une longue période du cycle cellulaire, est indispensable au déclenchement de la transition G2/M.

► Activation du pré-MPF

Une phosphatase, *Cdc25*, est séquestrée dans le cytoplasme pendant la réplication. À la fin de la phase S, *cycline B1/Cdk1*, *Cdc25* font la navette entre le noyau et le cytoplasme, car ces protéines reçoivent des signaux d'importation et d'exportation. Lorsque le *signal d'exportation* du noyau de *cycline B1/Cdk1* est inhibé par la phosphorylation de la cycline B1, la cycline B1 s'accumule très rapidement dans le noyau. En même temps, *Cdc25* est phosphorylée à la fin de la phase G2 par une kinase, la kinase Polo. *Cdc25* interrompt ses allers et retours pour demeurer aussi dans le noyau. *Cdc25C* active alors *cycline B1/Cdk1* en enlevant deux phosphates. Mais, cette activation n'intéresse qu'une faible partie du stock *cycline B1/Cdk1*. *Cdk1* activé phosphoryle *Cdc25* et *Wee*, activant ainsi *Cdc25*, son activateur, et inhibant *Wee* 1 son propre inhibiteur.

► Mode d'action de MPF

Le complexe *cycline B1/Cdk1* phosphoryle les protéines cibles suivantes :

- les *histones* H1 et H3, les condensines qui peuvent alors intervenir dans le compactage des chromosomes ;
- les *lamines* dont la dépolymérisation favorise la désorganisation et la fragmentation de l'enveloppe nucléaire ;
- le complexe promoteur de l'anaphase qui, activé, permet à la séparase de lyser la cohésine (*Sccl*) qui unit les deux chromatides de chacun des chromosomes métaphasiques.

Le complexe *cycline B1/Cdk1* joue un rôle essentiel dans la réorganisation des microtubules qui constitueront le fuseau mitotique, dans la fixation des chromosomes sur le fuseau, la réorganisation des MF d'actine, de l'appareil de Golgi et du RE.

■ Les cellules des mammifères contiennent plusieurs types de cycline B (*B1*, *B2*, *B3*) et vraisemblablement d'autres. La cycline *B1* est indispensable à la cellule pour franchir la zone de transition G2/M. Une anomalie de son gène est létale.

V. La phase M

A. Prophase

1. Définition

La prophase est la première phase de la mitose : elle est caractérisée par une condensation des chromosomes dans le noyau dont l'enveloppe existe encore. Les chromosomes sont alors constitués par l'association de deux chromatides. Les microtubules s'organisent en un fuseau tendu entre les deux centrosomes qui migrent vers chacun des pôles nucléaires. La prophase prépare la répartition des chromosomes (durée 15 à 30 min).

2. Modifications nucléaires

Les *modifications nucléaires* qui apparaissent au cours de la mitose sont précédées par l'apparition des *microtubules* qui se disposent en rangées autour du noyau alors que la chromatine est encore diffuse.

a. Condensation des chromosomes

À la fin de la phase S, chaque chromosome est formé de deux fibres nucléosomiques sinueuses, entremêlées, unies par leur centromère. À la fin de la phase G₂, les fibres nucléosomiques se replient autour d'un axe squelettique constitué par des *protéines non histones* et forment des boucles de 10 à 160 kb. Puis l'axe squelettique s'enroule à son tour en solénoïde, de sorte que le chromosome devient visible en microscopie optique.

À ce stade, deux chromatides réunis par leur centromère, au niveau d'une constriction primaire, constituent un chromosome. Chaque chromosome se rapproche de l'enveloppe nucléaire, laissant un espace centronucléaire vide.

La *condensation des chromosomes* (fig. 12.11) est le résultat combiné de la *phosphorylation* de deux sous-unités de la *condensine*, des histones H1 par la *cycline B/Cdk1* et de H3 par la protéine *kinase Aurora B*.

La *condensine* est un complexe de cinq protéines, comportant deux membres de la *famille des SMC* : SMC2 (XCAP-E) et SMC4 (XCAP-C, XCAP-D2, XCAP-H, XCAP-G). Les *protéines SMC* sont des dimères possédant une longue région centrale constituée par un superenroulement antiparallèle articulé en son centre. Ces molécules dimériques possèdent deux extrémités globulaires qui se fixent sur l'ADN et hydrolysent l'ATP.

La condensine est un constituant majeur des chromosomes mitotiques et joue un rôle essentiel dans leur compactage (dans les chromosomes mitotiques, on trouve une molécule de condensine pour 10 kb d'ADN mitotique). La condensine est, avant la prophase, située dans le cytoplasme. Sa phosphorylation par le complexe cycline B/Cdk1 induit son importation dans le noyau.

La phosphorylation des histones provoque un déroulement local de la chromatine qui permet la liaison du complexe condensine à l'ADN. L'*ADN topo-isomérase II* interviendrait également dans le compactage et dans l'assemblage des chromosomes et comme un démêloir afin de constituer des chromosomes condensés distincts.

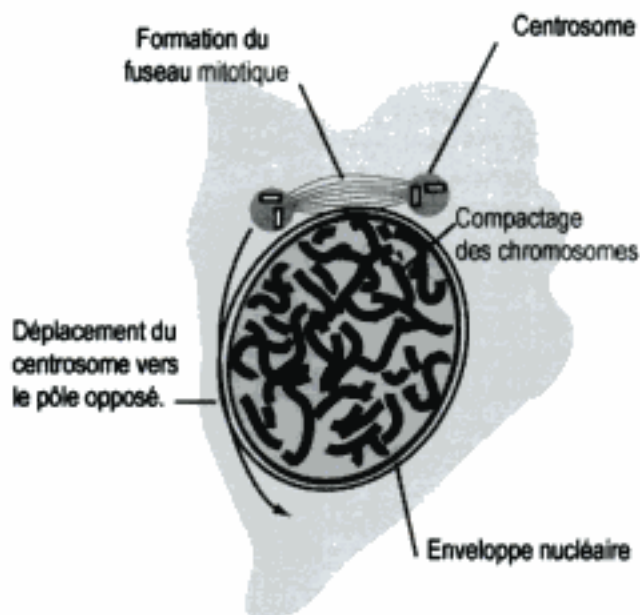


Fig. 12.11

Prophase.

Condensation de chromosomes. Le centrosome s'est dupliqué et un fuseau formé par des microtubules commence à apparaître. Chaque centrosome migre afin d'occuper chacun des deux pôles opposés.

b. Le désassemblage du nucléole

La taille du nucléole diminue et finalement le nucléole disparaît complètement. La phosphorylation de plusieurs protéines nucléolaires désassemble le nucléole : ses composantes fibrillaires denses et granulaires se dispersent. Seuls persisteront les centres fibrillaires : ils restent associés aux chromosomes mitotiques 13, 14, 15, 21, 22. Ils constituent les NOR. Les protéines nucléolaires comme la nucléoline et l'ARN polymérase I restent fixées aux NOR pendant la mitose.

3. Modifications cytoplasmiques

a. Réorganisation du cytosquelette

Les modifications cytoplasmiques regroupent une réorganisation du cytosquelette, un désassemblage d'une partie des filaments intermédiaires et des jonctions, ce qui explique la raison pour laquelle les cellules en mitose s'arrondissent.

La mitose est conditionnée par la *duplication du centre cellulaire*. Le diplosome du centrosome ou MTOC, situé à l'un des pôles nucléaires, baigne dans une substance dense (matériel péri-centriolaire).

Les microtubules sont nucléés par leur extrémité positive.

En phase *G1*, le centrosome contient deux centrioles (fig. 12.12). Pendant les phases *S* et *G2*, deux pro-centrioles, un pour chaque centrosome, se différencient : leur axe est perpendiculaire à l'extrémité de chaque centriole père. Il se forme ainsi deux diplosomes entourés par un matériel péri-centriolaire commun aux deux diplosomes.

Au tout début de la *prophase*, le centrosome se dédouble : les deux centrosomes qui contiennent deux centrioles égaux en longueur s'éloignent progressivement l'un de l'autre, en direction des pôles opposés de la cellule. C'est à ce moment que la compaction ou la condensation des chromosomes commencent.

Les complexes annulaires de tubuline γ , présents dans le matériel péri-centriolaire, nucléent avec efficacité les microtubules qui prennent une

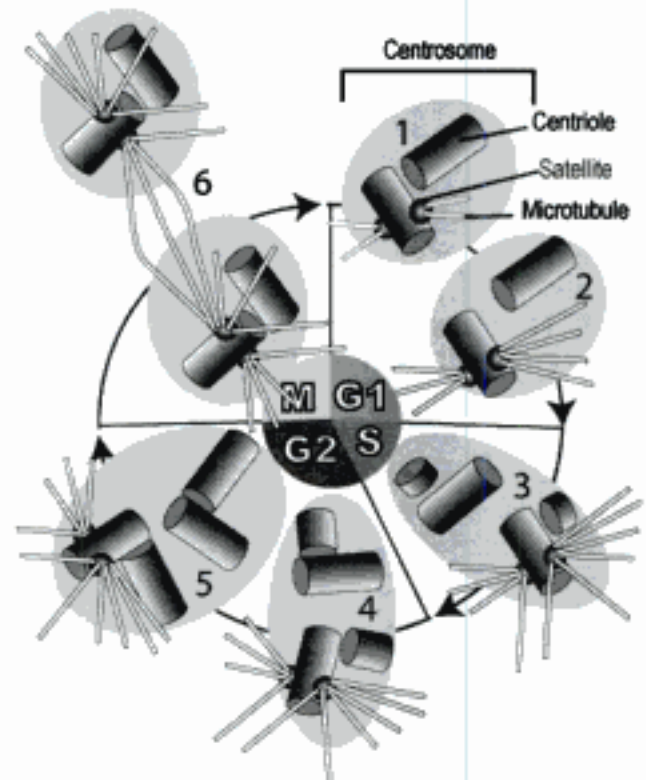


Fig. 12.12

Le cycle du centrosome et du centriole.

Le cycle cellulaire du centriole commence au cours de la phase G1 (1 et 2) : le centrosome contient deux centrioles, le centriole père et le centriole fils. Le centriole père possède des satellites sur lesquels s'insèrent les MT. Au cours de la phase S (3) un procentriole se différencie perpendiculairement à l'extrémité de chaque centriole. Au cours de la phase G2, chaque procentriole s'allonge et devient un centriole fils lorsqu'il a atteint la longueur du centriole père (4 et 5). Les centrioles dupliques sont encore situés dans un seul centrosome. Au tout début de la mitose (6), les deux paires de centriole se séparent, migrent vers les côtés opposés du noyau, définissant ainsi la bipolarité cellulaire : des microtubules sont tendus d'un centrosome à un autre (voir également fig. 20.5 pour plus d'informations).

disposition radiaire autour du centrosome, ressemblant à une étoile, d'où le terme d'*aster* utilisé pour désigner l'ensemble constitué par les centrosomes et les microtubules. Chaque aster agit tel un véritable centre organisateur des microtubules. Il se forme donc deux asters qui migrent progressivement en direction des pôles opposés du noyau, tandis que les microtubules situés entre les complexes s'allongent et forment le fuseau. À la moitié de la prophase, les asters se localisent chacun à l'un des pôles opposés du noyau. Ils sont reliés par quelques microtubules interpolaire.

b. Interruption des synthèses protéiques

La phosphorylation du *facteur d'élongation EF2* par la kinase cycline B/Cdk1-p9 interrompt les synthèses protéiques, et empêche l'assemblage de nouveaux ribosomes.

c. Évolution de l'appareil de Golgi

Le bourgeonnement des vésicules à partir de l'appareil de Golgi est médié par le complexe COP I. Mais les vésicules de transport venant du RE ne peuvent fusionner avec les saccules golgiens. En effet, une protéine d'arrimage de la membrane des saccules, la protéine GM 130, qui intervient dans la fusion, est phosphorylée par cycline B/Cdk1-p9. Cette phosphorylation bloque l'interaction de la GM130 avec la protéine p115 localisée sur les vésicules de transport. Le résultat net est que le Golgi disparaît en formant de petites vésicules.

d. Évolution du RE

Il se fragmente également en petites vésicules

B. Prométaphase

1. Définition

La prométaphase est la deuxième phase de la mitose qui commence par le désassemblage de l'enveloppe nucléaire, la différenciation des kinétochores (fig. 12.13). Elle est donc caractérisée par la fragmentation complète de l'enveloppe nucléaire qui se disperse sous la forme de vésicules et par l'attachement des microtubules du fuseau mitotique sur les kinétochores.

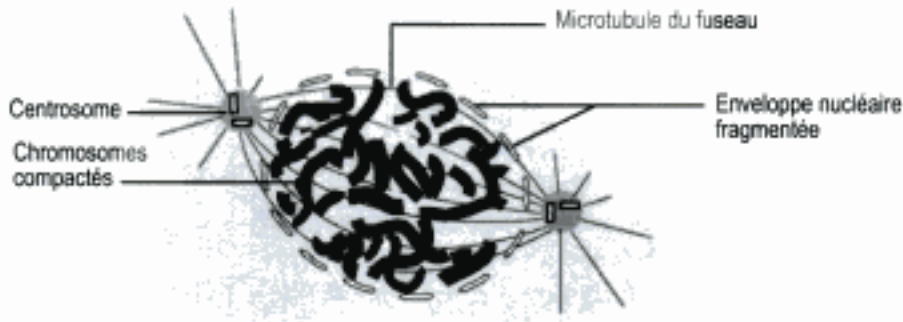


Fig. 12.13

Prométaphase.

L'enveloppe nucléaire se fragmente. Les microtubules polaires, nucléés par les centrosomes, pénètrent dans la région nucléaire. Les chromosomes s'attachent par leur kinétochore aux microtubules.

2. Désassemblage de l'enveloppe nucléaire

- *MPF phosphoryle* les résidus sérine des trois *lamines* nucléaires ; il provoque la dépolymérisation de ces filaments intermédiaires. Les lamines A et C sont dispersées dans le cytoplasme tandis que la lamine B phosphorylée reste associée aux membranes d'origine nucléaire par son ancre isoprényle.
- *MPF dissocie les complexes de pore* en phosphorylant des nucléopores spécifiques.
- *MPF*, en phosphorylant des protéines intrinsèques de la membrane interne, diminue puis supprime l'affinité de la chromatine pour la membrane interne. La membrane interne se détache de la lamina et de la chromatine et s'incorpore dans le réticulum endoplasmique dont la membrane externe de l'enveloppe nucléaire est une dépendance.

3. Modifications cytoplasmiques

Cette prométaphase est caractérisée par la mise en place du fuseau. Le fuseau est une structure symétrique par rapport à un plan passant par la partie médiane de la cellule. Il est constitué par des microtubules irradiant de chacun des deux pôles.

► Fixation des chromosomes aux microtubules

Les microtubules du fuseau pénètrent dans la région nucléaire où la condensation des chromosomes est achevée. Chaque chromosome est constitué par deux chromatides associées l'une à l'autre par leur centromère.

Les kinétochores, au début de la prométaphase, capturent, grâce à la *dynéine* qu'ils contiennent, l'extrémité positive des MT. Au moment de la

Hidden page

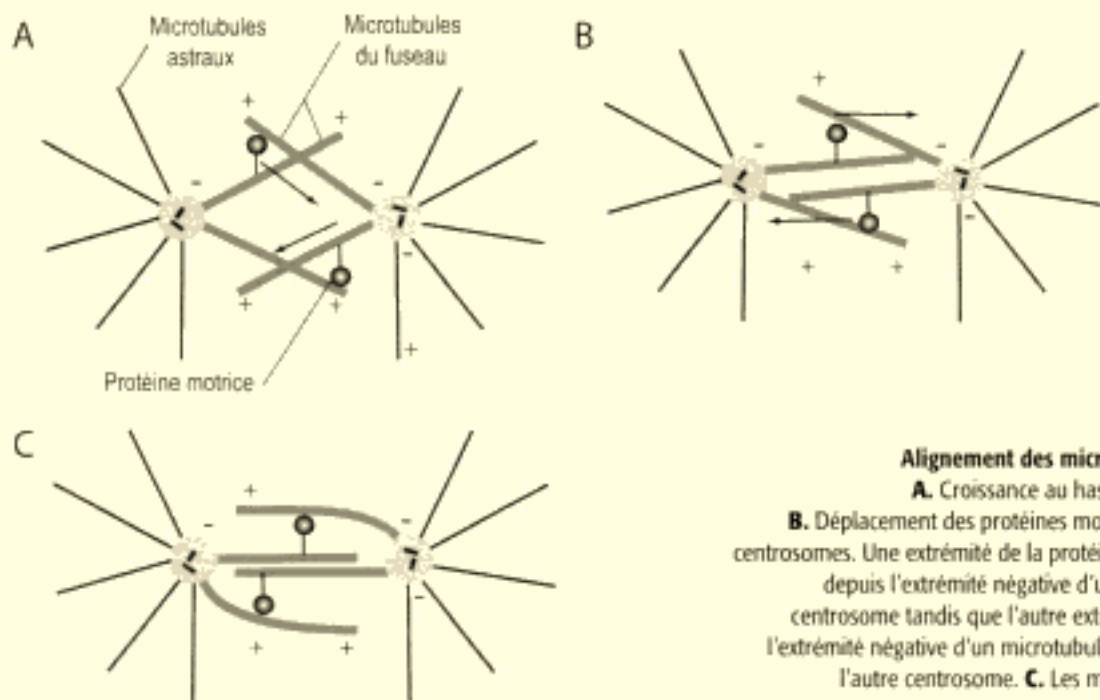


Fig. 12.15

Alignement des microtubules mitotiques.

A. Croissance au hasard des microtubules.
B. Déplacement des protéines motrices en direction des centrosomes. Une extrémité de la protéine motrice se déplace depuis l'extrémité négative d'un MT dépendant d'un centrosome tandis que l'autre extrémité se déplace vers l'extrémité négative d'un microtubule voisin dépendant de l'autre centrosome. **C.** Les microtubules s'alignent.

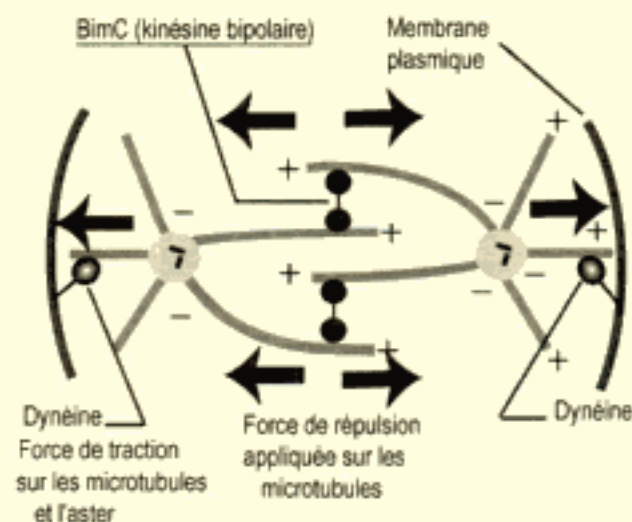


Fig. 12.16

Mode d'action des protéines motrices sur les microtubules de l'appareil mitotique.

Les kinétochores sont des centres organisateurs localisés au niveau de chaque centromère. Ils jouent un rôle essentiel dans les mouvements des chromosomes. Au cours de la phase G1, ils ont la forme d'une condensation linéaire au niveau de chaque centromère. Pendant la phase G2, il existe deux kinétochores par chromosome (les chromosomes sont alors constitués par deux chromatides). Les kinétochores sont des complexes multiprotéiques qui se *transforment en une plaque*, puis en un collier elliptique trilamellaire, d'un diamètre de 0,5 μm et d'une épaisseur de 1 μm . Ils deviennent alors fonctionnels et assurent la polymérisation ou la dépolymérisation des MT qui se fixent sur les kinétochores (kMT : *kinetochorian Microtubules* ; microtubules kinétochoriens) dont la direction est perpendiculaire à l'axe du chromosome. Les chromosomes se disposent perpendiculairement aux fibres fusoriales, chaque kinétochoire faisant face à l'un des diplosomes. Les chromosomes migrent vers le plan équatorial de la cellule.

C. Métaphase

1. Définition

La métaphase est une phase de la division cellulaire caractérisée par le rassemblement de tous les chromosomes sur la plaque équatoriale (partie moyenne de la cellule). Au cours de cette phase, tous les chromosomes sont constitués de deux chromatides qui portent chacune un kinétochore et doivent avoir pris une orientation bipolaire avant le début de l'anaphase (fig. 12.17).

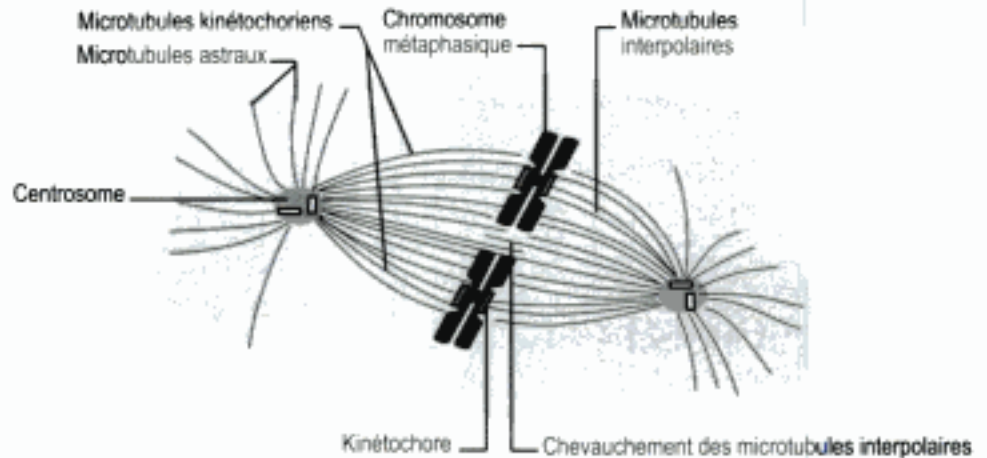


Fig. 12.17

Métaphase.

2. Fuseau mitotique

a. Les divers types de microtubules

Le fuseau mitotique à la fin de la prométaphase regroupe :

- les *microtubules kinétochoriens* qui possèdent une extrémité positive en relation avec les kinétochores tandis que l'extrémité opposée est située au voisinage du pôle fusorial. Ces microtubules kinétochoriens constituent des *fibres kinétochoriennes* qui, chez l'Homme, sont constituées par une *vingtaine de microtubules*. On estime que 80 % des microtubules du fuseau pourraient être présents dans les fibres kinétochoriennes ;
- les *microtubules interpolaux ou chevauchants* : ces microtubules ne s'attachent pas au kinétochore. Ils sont répartis dans le fuseau mitotique. Ils se terminent dans la région équatoriale de la cellule : les extrémités positives se chevauchent dans le plan équatorial de la cellule ;
- les *microtubules astériens* qui possèdent une extrémité positive en relation avec la membrane cellulaire. Ils interviennent dans l'orientation du fuseau mitotique en interagissant avec le cortex cellulaire par l'intermédiaire de la dynéine.

b. Treadmilling des microtubules à la métaphase

Au moment de la métaphase, tous les chromosomes, constitués par deux chromatides, s'alignent dans la région équatoriale de la cellule.

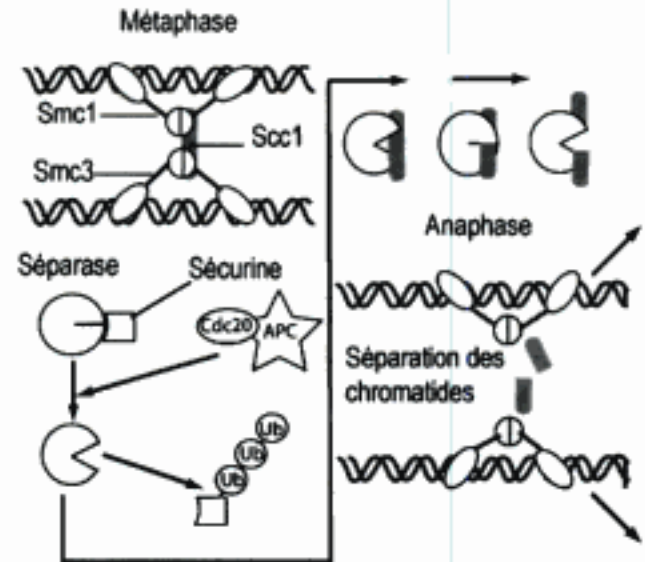
La longueur des microtubules est stable, car la perte des sous-unités de tubuline à l'extrémité négative est compensée par l'addition de sous-unités à l'extrémité positive (*treadmilling* que l'on peut traduire par tapis

Hidden page

Fig. 12.19

Séparation des chromatides sœurs (qui forment le chromosome métaphasique) au début de l'anaphase.

La cohésine est un complexe multiprotéique. Ce complexe contient des protéines dimériques SMC1 et SMC3 qui lient l'ADN de chaque chromatide par l'intermédiaire de domaines globulaires situés à chacune de ses extrémités. Il contient également Scc1 (en gris) qui lie les protéines SMC. Dès que tous les chromosomes sont attachés au kinétochore, le facteur Cdc20 active APC. Cette activation déclenche la polyubiquitinylation de la sécurine. La séparase libérée peut alors cliver Scc1, séparant ainsi les deux chromatides.



- d'un pool de topo-isomérases associées au centromère qui provoque des coupures temporaires et ressoude les extrémités ; il se pourrait donc que les molécules d'ADN des chromatides soient entrelacées ;
- de la dégradation de la *cohésine* qui unit les chromatides sœurs ; à la fin de cette phase, tous les chromosomes doivent être correctement attachés au fuseau par leur kinétochore, sinon les chromatides sœurs ne peuvent pas se séparer. En effet, les *chromatides* sont liées l'une à l'autre par des molécules de *cohésine* situées au niveau de leur centromère. La destruction de la *cohésine*, qui permet de libérer les chromatides l'une de l'autre, dépend d'une enzyme, la *séparase*. Mais l'activité de la séparase est inhibée par une protéine, la *sécurine*. Pour que la séparase puisse agir, il est nécessaire que la sécurine soit détruite. Cette destruction de la sécurine dépend d'une ubiquitine active qui n'est autre que APC lié à Cdc20.

b. Blocage de la cellule en métaphase

Si les chromatides ne s'attachent pas par leur kinétochore aux microtubules, le passage de la cellule en métaphase est bloqué. Ce blocage dépend des protéines kinases *BUB* qui se lient à tous les kinétochores. Les protéines *BUB* (*Budding Uninhibited by Benzimidazole* ; bourgeonnement non inhibé par le benzimidazole) contrôlent l'activité de *Mad1* (*Mitotic arrest-defective protein* ; protéine de l'arrêt défectueux de la mitose). Elles activent la protéine *Mad1* qui déclenche l'intervention de *Mad2* : *Mad2* forme un complexe avec APC-Cdc20 : APC-Cdc20-*Mad2* n'a aucune action sur la sécurine. Les signaux inhibiteurs disparaissent au fur et à mesure que les chromosomes s'attachent au fuseau mitotique. Dès que tous les chromosomes sont attachés aux microtubules du fuseau, *Mad2* est libéré du complexe, APC-Cdc20 devient actif, la sécurine est détruite et la séparase, qui n'est plus inhibée, réalise la protéolyse de la cohésine, déclenchant ainsi le début de l'anaphase (fig. 12.20).

Hidden page

Les éléments dont les biologistes disposent actuellement indiquent que les mouvements des chromosomes sont dus :

- au raccourcissement des microtubules kinétochoriens ; *CENP-E*, une kinésine très volumineuse, reste accrochée à l'extrémité positive des microtubules en cours de désassemblage (fig. 12.22). *CENP-E* est impliquée dans le mouvement des chromosomes et agit aussi comme facteur de couplage de la dépolymérisation. La dépolymérisation dépendrait aussi de *MCAK* qui est une kinésine déstabilisante des microtubules : elle aurait pour fonction de dépolymériser les microtubules au voisinage immédiat du kinétochore en même temps que les chromosomes se déplacent en direction des pôles ;
- aux molécules motrices kinétochoriennes comme la dynéine cytoplasmique qui est localisée dans la couronne.

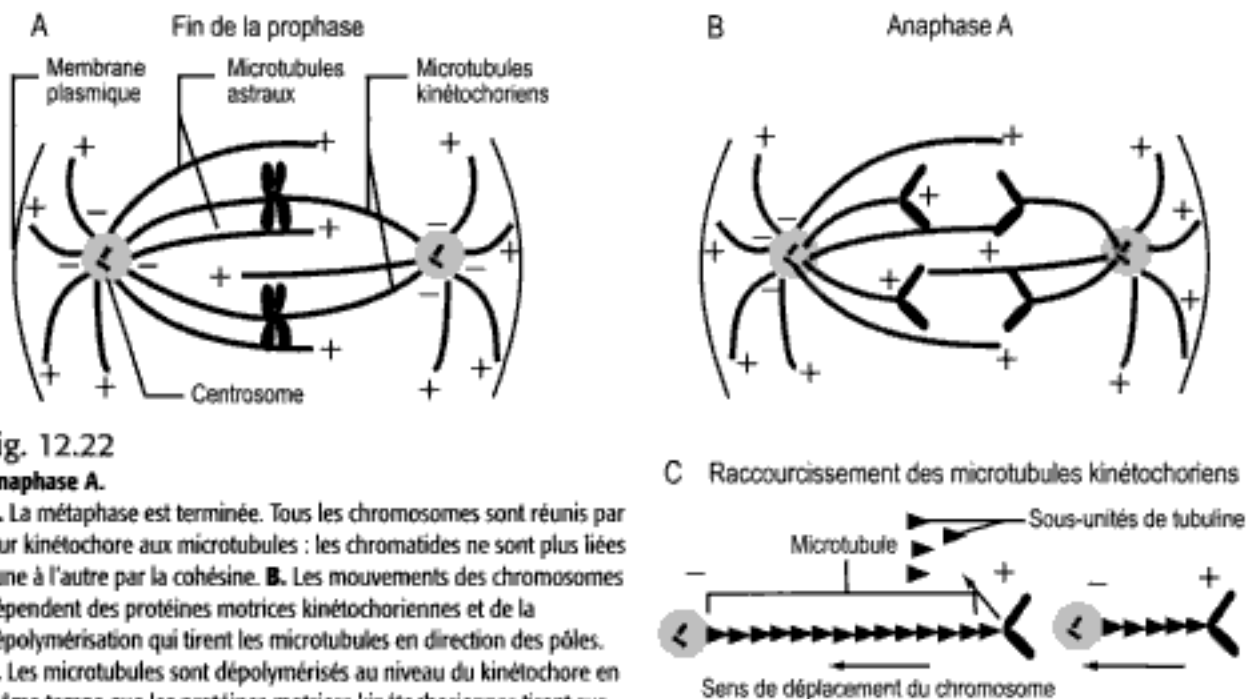


Fig. 12.22

Anaphase A.

A. La métaphase est terminée. Tous les chromosomes sont réunis par leur kinétochore aux microtubules : les chromatides ne sont plus liées l'une à l'autre par la cohésine. **B.** Les mouvements des chromosomes dépendent des protéines motrices kinétochoriennes et de la dépolymérisation qui tirent les microtubules en direction des pôles. **C.** Les microtubules sont dépolymérisés au niveau du kinétochore en même temps que les protéines motrices kinétochoriennes tirent sur l'extrémité positive.

3. Anaphase B

L'anaphase B est caractérisée par un étirement global du fuseau mitotique (allongement des microtubules polaires et déplacement des pôles du fuseau qui s'éloignent l'un de l'autre) : les microtubules kinétochoriens raccourcissent, tandis que les chromosomes poursuivent leur migration vers les pôles mitotiques (fig. 12.23).

Le déclenchement de l'anaphase B dépend de l'inactivation des kinésines motrices C-terminales, de sorte que toutes les forces motrices majeures favorisent désormais l'élongation du fuseau.

Hidden page

Hidden page

tenus les uns aux autres par l'anilline qui elle-même les fixe à la membrane.

La contraction de l'anneau se fait par glissement des filaments de myosine et des MF les uns par rapport aux autres. Cette contraction tire la membrane cellulaire vers l'intérieur et évidemment l'allonge. Un tel mécanisme augmente la surface de la membrane cellulaire. Parmi les protéines qui interviennent dans la formation de cette nouvelle membrane, on connaît relativement bien les *septines*. Les septines pourraient cibler des vésicules membranaires vers le sillon de clivage.

2. Contraction de l'anneau contractile

À la fin de la télophase, l'anneau se contracte, par glissement des MF et des filaments de myosine, d'une manière comparable aux filaments d'une fibre musculaire striée. En se contractant, l'anneau entraîne la membrane plasmique dans un mouvement de fermeture, analogue à celui d'un diaphragme. En même temps qu'il se contracte, il perd des filaments, de telle manière que l'épaisseur de l'anneau reste constante. La répartition des organites (mitochondries, réticulum endoplasmique, lysosomes, peroxysomes, appareil de Golgi) se déroule selon un processus encore mal expliqué (fig. 12.26).

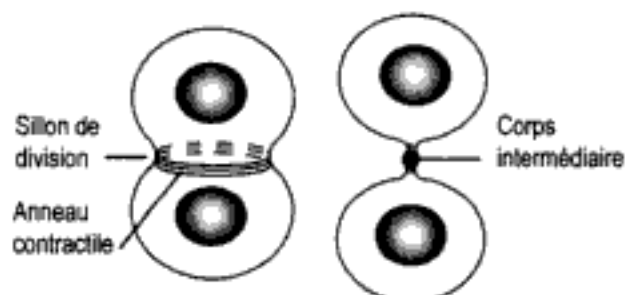


Fig. 12.26

Anneau contractile.

Juste avant la cytodierèse, il subsiste une formation ovoïde de 1 μm de diamètre sur 2 à 3 μm de longueur, le corps intermédiaire. Il contient des microtubules englobés dans une substance dure et amorphe.

3. Corps intermédiaire

À la fin de la cytodierèse, l'anneau contractile ne contient plus de filaments d'actine et de myosine. Juste avant la séparation des deux cellules filles, il subsiste une formation ovoïde de 1 μm de diamètre sur 2 à 3 μm de longueur, le corps intermédiaire, qui réunit encore les deux cellules. Ce corps intermédiaire contient les microtubules polaires antiparallèles englobés dans une substance dense et amorphe.

Ce corps intermédiaire finit par se rompre. Le mécanisme de la rupture est mal connu.

4. Fin de la division cellulaire

Le complexe cycline B-Cdk1, qui a été à l'origine de l'activation de APC au début de la phase de transition métaphase/anaphase, est détruit après ubiquitinylation par APC. APC forme un complexe avec *Cdc 20 homolog* : ce complexe lyse la cycline B/Cdk1 après ubiquitinylation. La protéolyse de la cycline B induit l'inactivation de Cdk1, ce qui met fin à la division cellulaire (fig. 12.27).

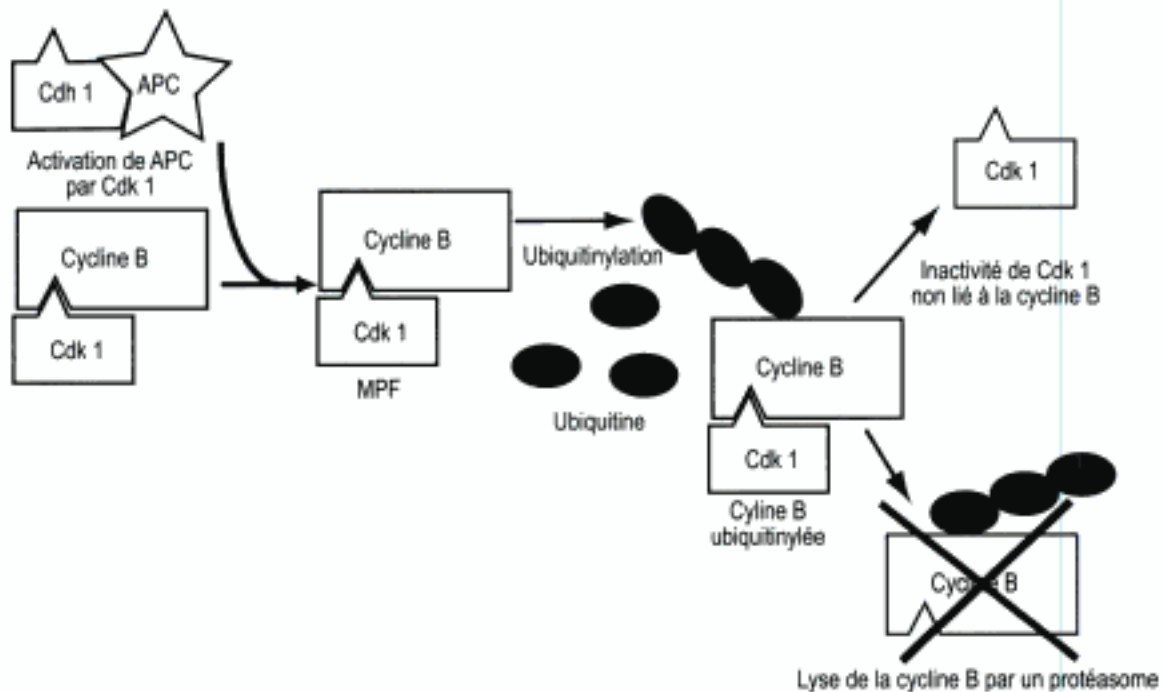


Fig. 12.27

Sortie de la division cellulaire.

POINTS CLÉS

- Le cycle cellulaire se déroule sous le contrôle étroit des *Cdk*, qui sont des sérine-thréonine kinases activées par les cyclines dont la concentration varie au cours du cycle, et des *CKI*.
- Le complexe cycline D/Cdk4 assure la progression de la cellule au cours de la phase G1 : son activation active la protéine Rb du complexe Rb/E2F. E2F libéré active la synthèse des cyclines de la phase S (cyclines E et A).
- Le point de restriction (en G1) est une limite dont le franchissement dépend de l'hyperphosphorylation de Rb par cycline D/Cdk4 et cycline E/Cdk2.
- Un point de contrôle de la qualité de l'ADN au cours de la transition G1/S dépend de la kinase ATM qui, activée par une lésion de l'ADN, inactive CDC25 (blocage rapide) ou/et active la p53 (apoptose, arrêt en G1 ou S ou réparation de l'ADN).
- L'inhibition par CKI des complexes cycline/Cdk de la phase S est levée par la phosphorylation de CKI par cycline E/Cdk2.
- Au cours de la phase S, les complexes cycline A/Cdk1 et cycline E/Cdk2 phosphorylent les composants du complexe de pré-réplication et la réplication commence.
- Le point de surveillance G2/M intervient avant l'activation du complexe cycline B-Cdk1.
- Si la réplication de l'ADN est incorrecte, un mécanisme semblable à celui du point de contrôle de la phase G1 interrompt le cycle.
- Le pré-MPF (cycline B/Cdk1 complexe inactivé) constitué progressivement pendant S et G2 est activé par Cdc25 (une phosphatase qui lui enlève deux phosphates). MPF déclenche, par phosphorylation, le compactage des chromosomes (histones H1 et H3, condensine), la désorganisation des lamines et l'activation de APC.
- Des protéines kinases *BUB* contrôlent la fixation de tous les microtubules aux kinétochores. Si un seul kinétochore reste libre, le passage de la cellule en métaphase est bloqué.
- La cellule sort de la mitose si la protéolyse de la cycline B est induite par l'inactivation de Cdk1 par le complexe APC/Cdh1.

VI. L'apoptose

A. Définition

L'apoptose est un mécanisme intracellulaire, aussi important que la mitose, génétiquement déterminé, de destruction de la cellule, sans réaction inflammatoire, appelé aussi mort cellulaire programmée, qui est caractérisé par une réorganisation nucléaire (densification de la chromatine), des altérations de la membrane plasmique et une ultime fragmentation de la cellule en corps apoptotiques. L'apoptose est un mécanisme régulateur essentiel, qui intervient dans l'homéostasie tissulaire. Il permet l'élimination des cellules superflues ou indésirables.

B. Mort accidentelle et mort programmée

La cellule, pour mourir, peut emprunter soit la voie de la mort accidentelle, soit celle de la mort programmée : tout dépend de la cause de la mort cellulaire.

1. Mort accidentelle ou nécrose

La nécrose est spectaculaire, catastrophique, désordonnée. Les cellules accidentellement lésées par une hypoxie, par une substance toxique ou par un agent infectieux, sont détruites par nécrose. Elles *deviennent plus volumineuses*, les organites se gonflent et la membrane plasmique rompue ne contrôle plus le passage des ions et de l'eau. Les membranes lysosomales se rompent, libèrent, dans le milieu intercellulaire, les enzymes contenues dans les lysosomes, ce qui déclenche une *réaction inflammatoire* suivie d'une cicatrisation fibreuse, qui dénature l'organisation du tissu.

2. Cellules justiciables de la mort programmée

Au cours de l'apoptose, des millions de cellules meurent en quelques heures sans entraîner ni inflammation, ni lésion dans les tissus où elles disparaissent. Ce sont :

- des *cellules défectueuses* : par exemple, les lymphocytes T qui ne reconnaissent pas le CMH. Un tiers environ des précurseurs immatures des lymphocytes T meurt chaque jour au cours de l'embryogenèse, sans provoquer la moindre lésion du thymus. L'apoptose est donc un mécanisme aussi important que la mitose ;
- des *cellules obsolètes* : les cellules de la queue du têtard de grenouille disparaissent par apoptose. La formation des doigts et des orteils du fœtus nécessite la destruction, par apoptose, des cellules qui les unissent. L'élimination de la couche déciduale de la muqueuse utérine lors de la menstruation dépend également de l'apoptose ;
- des *cellules en excès* : au moment de la formation des connexions neuronales (synapses) dans le cerveau, les cellules en surplus meurent par apoptose... ;
- des *cellules infectées par les virus* : la mort cellulaire programmée est nécessaire pour détruire les cellules qui présentent un risque pour l'intégrité de l'organisme. Par exemple, les lymphocytes T cytotoxiques (CTL) détruisent les cellules infectées par les virus en induisant leur apoptose :

malheureusement, un certain nombre de virus, et en particulier le virus du sida, possède des protéines (la protéine Nef) qui leur permettent d'éviter l'induction de l'apoptose. Lorsque les défenses de l'organisme contrôlées par l'immunité cellulaire diminuent, les cellules effectrices peuvent être éliminées pour éviter les effets des constituants agressant l'organisme. Les CTL induisent l'apoptose pour chacune de ces cellules et même pour eux-mêmes. L'absence ou la carence du fonctionnement de la machinerie apoptotique est déterminante dans les maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux et l'arthrite rhumatoïde ;

- *des cellules dont le génome est altéré* (ces altérations peuvent provoquer soit un arrêt du développement embryonnaire conduisant à l'avortement, soit un cancer) : elles élaborent une plus grande quantité d'une protéine, la protéine p53 qui induit l'apoptose. La mutation du gène de la protéine p53 produit une protéine inefficace que l'on rencontre souvent dans les cellules cancéreuses. Enfin les radiations et les substances chimiques utilisées dans la thérapie des cancers induisent l'apoptose de nombreux types de cellules cancéreuses ;
- *les cellules ayant subi une chimiothérapie* : la chimiothérapie ne tue pas les cellules. Ce sont les lésions provoquées par la chimiothérapie qui déclenche l'apoptose de cellules qui ne sont plus nécessaires à l'organisme.

C. Déroulement de l'apoptose

La cellule reçoit des signaux de mort qui sont soit d'origine extracellulaire, soit d'origine intracellulaire.

1. Phase initiale ou phase latente

Dès la réception de ces signaux, la cellule entre dans une phase initiale, la phase de condamnation irréversible, dont la durée varie considérablement. La cellule semble normale, mais elle prépare son suicide.

2. Phase d'exécution

Elle débute brutalement et dure 15 min à 1 heure. Cette phase d'exécution requiert la participation des *caspases*.

D. Altérations cellulaires provoquées par l'apoptose

Contrairement au gonflement cellulaire provoqué par la nécrose, la cellule apoptotique se rétrécit (fig. 12.28).

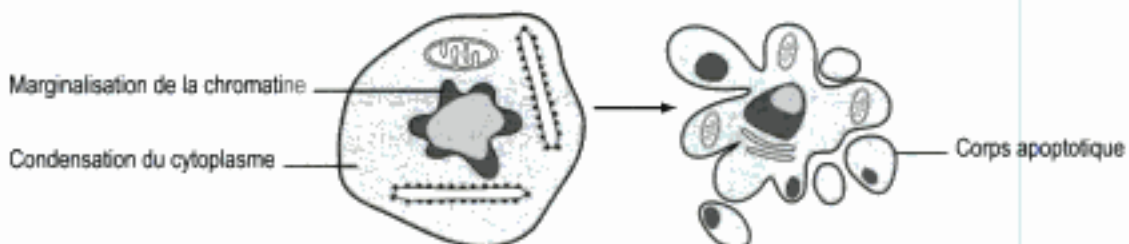


Fig. 12.28

Apoptose.

Formation des corps apoptotiques par fragmentation de la cellule.

Hidden page

Hidden page

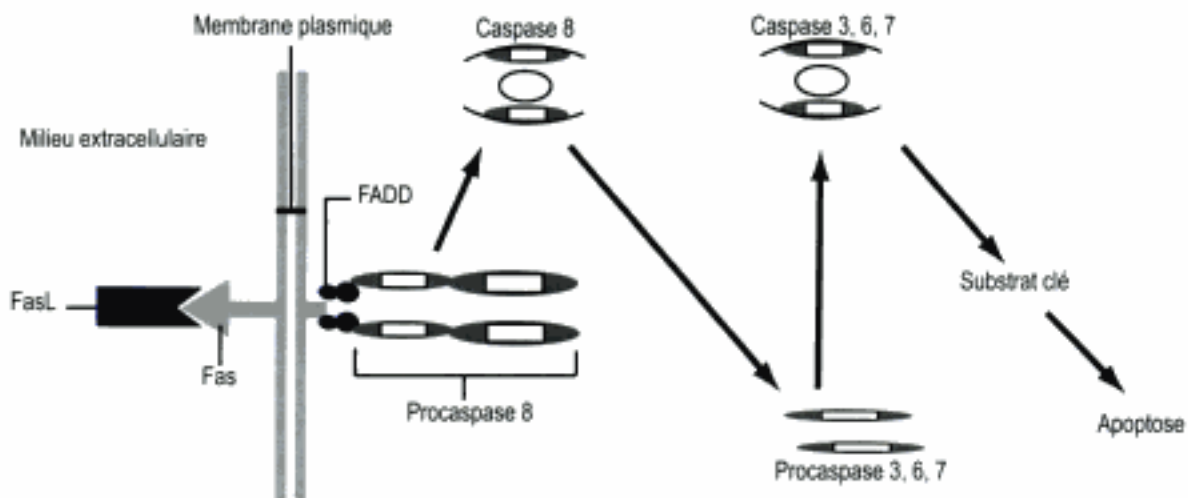


Fig. 12.29

Chaîne d'activation des caspases après fixation du ligand de Fas (FasL) sur son récepteur.

La fixation de FasL sur son récepteur provoque le recrutement de FADD sur lequel se fixe la procaspase-8. La procaspase-8 est activée : elle agit sur les procaspases 3, 6, 7 qui lysent les structures cellulaires et provoquent l'apoptose.

Exemple (fig. 12.30) : lorsqu'un lymphocyte T cytotoxique reconnaît une cible (grâce aux molécules d'histocompatibilité qu'elle porte), il produit FasL. FasL se lie au récepteur Fas de la surface de la cellule cible, ce qui déclenche l'apoptose de cette cellule.

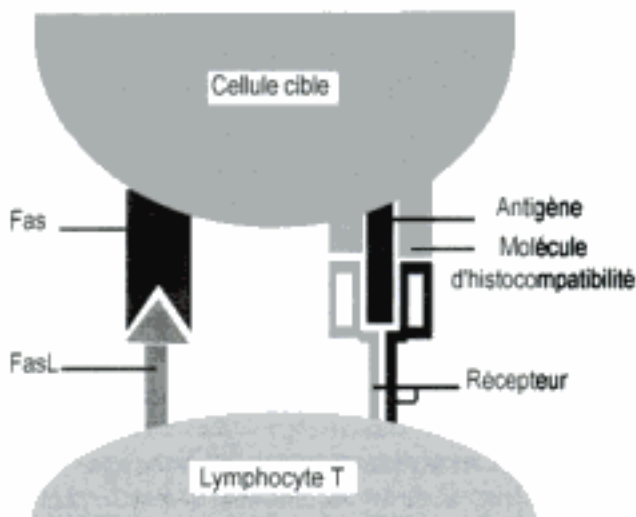


Fig. 12.30

Déclenchement de l'apoptose par les lymphocytes T.

3. Voie du TNF-R1

TNF, en se fixant sur le site récepteur de TNF-R1, induit également le recrutement de FADD, qui à son tour recrute la *procaspase-8*, l'active et provoque la mort de la cellule.

TNF-R1 peut se combiner, par l'intermédiaire de son domaine de mort, à TRADD (*TNF Receptor-Associated Death Domain protein* ; protéine associée au *death domain* du récepteur du TNF). TRADD est une protéine adaptatrice du complexe : elle intervient aussi bien sur le chemin de l'apoptose, en activant la procaspase-8, que sur le chemin de la vie en activant *NFκB*. *NFκB* est un facteur de transcription qui stimule la synthèse de la chaîne légère (*kappa*) des immunoglobulines des lymphocytes B

Hidden page

Hidden page

Hidden page

en deux sites : elle produit ainsi une nucléase possédant une séquence de localisation nucléaire. Cette nucléase est transférée au noyau, où elle entraîne une dégradation internucléosomique de l'ADN, c'est-à-dire une fragmentation. Cette fragmentation n'est pas impliquée dans les autres formes de mort cellulaire. Ce *mécanisme de destruction* de l'ADN trouve sa justification dans le fait que la fragmentation se déroule avant l'intervention des cellules phagocytaires, prévient tout risque de recombinaison avec l'ADN de ces cellules. Un tel dispositif évite toute instabilité génomique.

H. Apoptose et cancer

Les virus responsables du développement de certains cancers préviennent l'apoptose des cellules qu'ils ont transformées. Deux virus du papillome humain produisent une protéine E6 qui se lie à la protéine p53, un promoteur de l'apoptose, et l'inhibe.

Le virus Epstein-Barr, qui provoque la mononucléose et le lymphome de Burkitt, produit une protéine semblable à bcl-2 et également une autre protéine qui provoque l'augmentation de la production de bcl-2 par la cellule infectée. Ces deux actions rendent la cellule plus résistante à l'apoptose (ainsi les cellules sont capables de continuer à proliférer).

Les cellules cancéreuses produisent, sans la participation des virus, des moyens d'éviter l'apoptose. Par exemple, les cellules de la leucémie à cellules B et les lymphomes expriment bcl-2 en grande quantité, bloquant ainsi les signaux apoptotiques pouvant être reçus.

Le mélanome, le plus dangereux des cancers cutanés, est constitué par des cellules qui évitent l'apoptose en inhibant le gène qui code Apaf-1.

Les cancers du côlon et les cancers pulmonaires élaborent des niveaux élevés de protéines leurres qui se lient à FasL et l'empêchent de se combiner au récepteur Fas. Ainsi les lymphocytes cytotoxiques T ne peuvent tuer les cellules cancéreuses par le mécanisme précédemment décrit.

D'autres cellules cancéreuses expriment des niveaux élevés de FasL et peuvent tuer ainsi les lymphocytes cytotoxiques qui tentent de les supprimer, car ces cellules cancéreuses expriment aussi Fas mais sont protégées par leur propre FasL.

I. Apoptose et sida

Le virus du sida provoque une diminution importante des cellules T cytotoxiques (*CD4 T cells*). Normalement, le sang contient 1 000 lymphocytes T cytotoxiques par microlitre. Lorsque le nombre des lymphocytes cytotoxiques descend aux environs de 200/ μ L, le patient ne peut plus développer de réponse immune et commence à souffrir d'une série d'affections dangereuses voire mortelles.

La destruction des lymphocytes cytotoxiques est due à l'apoptose induite par le virus. En effet, les lymphocytes T activés par le VIH expriment à leur surface le récepteur de la molécule FasL. Une des protéines du VIH, la protéine *Nef*, peut faire synthétiser, par les lymphocytes T, le ligand Fas. Ce ligand est exporté par la cellule vers la surface, se fixe de manière sélective sur le récepteur Fas et déclenche l'apoptose de la cellule. Le VIH possède donc la propriété de tuer les cellules qui pourraient s'attaquer à lui.

La protéine Nef détient une autre propriété : elle peut interrompre, dans un lymphocyte T infecté, la cascade des réactions provoquées par la fixation du ligand Fas sur son récepteur ; elle bloque la transduction du signal de mort. La protéine Nef peut donc empêcher la mort cellulaire en réponse à la production de virus au sein de cellules infectées.

POINTS CLÉS

- La mort par apoptose des cellules a autant d'importance que la mitose. Elle dépend de deux voies : la voie des récepteurs membranaires de la mort cellulaire et la voie mitochondriale.
- Les *caspases* sont les principaux médiateurs intracellulaires de l'apoptose : l'activation dépend de la liaison de signaux de mort extracellulaire comme FasL qui en se fixant sur son récepteur active une protéine adaptatrice FADD : l'activation de FADD déclenche une cascade d'activation des caspases qui lysent les substrats intracellulaires spécifiques et provoquent la mort de la cellule.
- Les protéines de la famille *Bcl-2*, localisées dans la membrane externe des mitochondries, possèdent, en fonction de la sous-famille à laquelle elles appartiennent, une activité pro-apoptotique ou anti-apoptotique. Les protéines de la sous-famille *Bcl-2* ont une activité anti-apoptotique. Le blocage de leur activité, par *Bad* non phosphorylée, bloque cette fonction et le cytochrome *c*, situé dans l'espace intramembranaire des mitochondries, est libéré et forme avec la procaspase-9 et Apaf-1 un apoptosome qui déclenche la cascade de réactions d'activation des caspases.
- *Bax*, *Bad* sont des protéines régulatrices pro-apoptotiques qui activent les caspases : la liaison de facteurs de croissance extracellulaire peut induire des modifications de ces interactions, et permettre à la cellule de survivre.

Hidden page

11. La métaphase

- ☐ **A.** Alignement des chromosomes sur le plan équatorial du fuseau.
- ☐ **B.** Les kinétochores font face aux asters.
- ☐ **C.** Les kinétochores bloquent la polymérisation ou la dépolymérisation des microtubules.
- ☐ **D.** Les vésicules provenant du RE ou du Golgi migrent le long du fuseau mitotique.
- ☐ **E.** Mise en place de l'anneau contractile.

12. L'anaphase

- ☐ **A.** Séparation des chromatines grâce aux topo-isomérases.
- ☐ **B.** Séparation des chromatines grâce à la dégradation des cohésines.
- ☐ **C.** Séparation des chromatines grâce à l'activation de la séperase.
- ☐ **D.** Le raccourcissement des microtubules se fait au niveau de l'aster.
- ☐ **E.** La vitesse des chromatides est de 5 $\mu\text{m}/\text{min}$.

13. La télophase correspond

- ☐ **A.** À la fin de la migration des chromatides.
- ☐ **B.** À la reconstitution de l'enveloppe nucléaire.
- ☐ **C.** À la décondensation des chromosomes.
- ☐ **D.** À la mise en place et à la contraction de l'anneau contractile.
- ☐ **E.** À la séparation aléatoire des organites.

14. L'apoptose est un processus

- ☐ **A.** N'entraînant pas de réaction inflammatoire.
- ☐ **B.** De dédifférenciation de la membrane plasmique.
- ☐ **C.** De diminution des l'asymétrie membranaire.
- ☐ **D.** De condensation de la chromatine en périphérie du noyau.
- ☐ **E.** De fragmentation de la cellule.

15. L'apoptose

- ☐ **A.** Peut être inhibée par des facteurs de croissance.
- ☐ **B.** On observe une fragmentation du noyau mais pas une dégradation de l'ADN.
- ☐ **C.** Peut être d'origine interne mitochondriale.
- ☐ **D.** Les molécules initiatrices du processus sont des caspases.
- ☐ **E.** Selon l'origine du signal les caspases sont différentes.

Pour les corrections, se reporter à la page 584

Les mitochondries

- I. Définition
- II. Structure de la mitochondrie en microscopie optique
- III. Structure en ME et constitution biochimique
- IV. Le génome mitochondrial
- V. Synthèse des protéines d'origine mitochondriale
- VI. Importation des protéines dans les mitochondries
- VII. Importation des lipides
- VIII. Fonctions des mitochondries
- IX. Phylogénèse des mitochondries
- X. Pathologie d'origine mitochondriale

En 1890, Altmann découvre, dans le cytoplasme, des granulations et des filaments qu'il nomme « bioblastes » (du grec *bios* : vie, et *blastos* : germe). Benda, qui, en 1902, reconnaît la présence constante de ces éléments (dans les cellules eucaryotes), donne à ces « germes de vie » le nom de mitochondrie (du grec *mitos* : filament, et *kondria* : granule). L'organisation générale des mitochondries a été décrite pour la première fois, en microscopie électronique, par Palade (1952) et Sjöstrand (1953). En 1959, Chèvremont découvre la présence de molécules d'ADN dont la structure est fondamentalement différente de celle de l'ADN nucléaire mais absolument superposable à celle des bactéries. Les mitochondries n'existent pas chez les procaryotes. La mitochondrie est un organe clos, limité par une *double membrane* (paroi mitochondriale), dont l'organisation morphologique et moléculaire est semblable chez tous les eucaryotes. Elle est responsable du *stockage de l'énergie* libérée par le catabolisme des glucides, des protéines et des lipides, sous la forme d'ATP. Elle fait partie de l'une des deux voies de l'*apoptose*. La mitochondrie intervient également, en relation avec le réticulum endoplasmique, dans la *synthèse de phospholipides* membranaires et de *stéroïdes*. C'est aussi un *réservoir de calcium*, qu'elle peut libérer dans le cytosol grâce à l'intervention de perméases localisées dans la membrane interne. La mitochondrie, d'après la théorie endosymbiotique, aurait comme ancêtre une α -protobactérie qui a pénétré dans le cytoplasme d'une cellule eucaryote.

I. Définition

La mitochondrie est un organite semi-autonome, spécifique des eucaryotes aérobies, limité par deux membranes, possédant son *propre génome* d'origine maternelle : elle utilise l'énergie libérée par le catabolisme des glucides, des protéines et des lipides pour produire, par l'intermédiaire de la *chaîne respiratoire* et de l'ATP-synthase, de l'ATP, une molécule de stockage de l'énergie. Elle participe à la *maturation des protéines importées* et à la *dégradation des protéines mitochondriales*, grâce à la membrane interne et à la matrice qui contiennent des *protéases de la famille AAA*. Elle joue un rôle clé dans l'*apoptose*.

II. Structure de la mitochondrie en microscopie optique

A. *In vitro*, après fixation

1. Taille et forme

Après fixation des cellules, les colorations montrent que les mitochondries sont soit globulaires, soit filamenteuses. Dans la plupart des cellules, les mitochondries ont une forme de petits bâtonnets de 0,5 à 1 μm de diamètre. Leur longueur peut atteindre environ une dizaine de microns. Leur taille, leur forme varient en fonction du type cellulaire et de son activité. Dans les cellules embryonnaires, les mitochondries sont sphériques, alors que dans les cellules conjonctives, par exemple, dans les fibroblastes, elles sont filamenteuses (fig. 13.1).

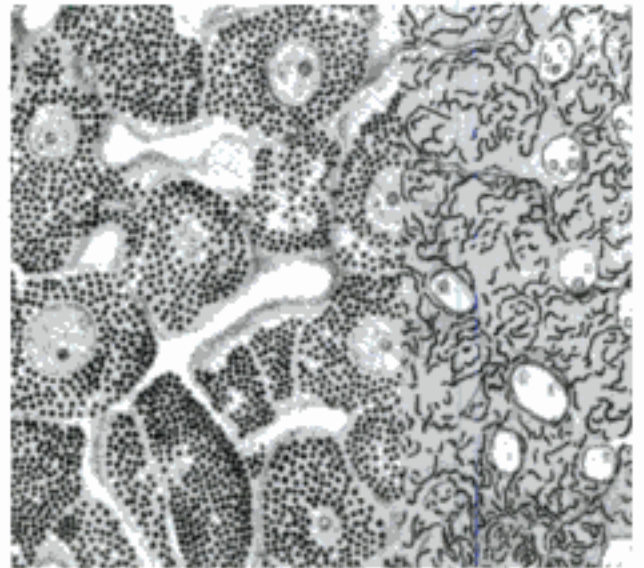


Fig. 13.1

Mitochondrie en microscopie optique
(coloration de Altmann).

Forme arrondie ou filamenteuse des mitochondries.

2. Nombre et distribution

La répartition des mitochondries est différente en fonction du type cellulaire. Dans les cellules hépatiques, elles se répartissent d'une manière uniforme dans le cytoplasme. Leur nombre peut atteindre 1 700 à 1 800 par cellule : le volume total occupé par les mitochondries correspond approximativement au quart du volume cellulaire. Cette distribution peut

ne pas être uniforme : elle dépend des *besoins locaux en énergie*. Dans le muscle strié squelettique, les mitochondries se disposent en face des *disques A* des myofibrilles. Dans les *cellules visuelles* (bâtonnets de la rétine), elles occupent l'*article interne*. Dans les *tubes excréteurs* (fig. 13.2) du rein, elles sont situées dans la région basale de la cellule, où elles libèrent de l'ATP qui est utilisé par la membrane plasmique pour transporter de l'eau, des ions et diverses molécules. Dans les entérocytes, elles occupent le *pôle basal* et le *pôle apical*.

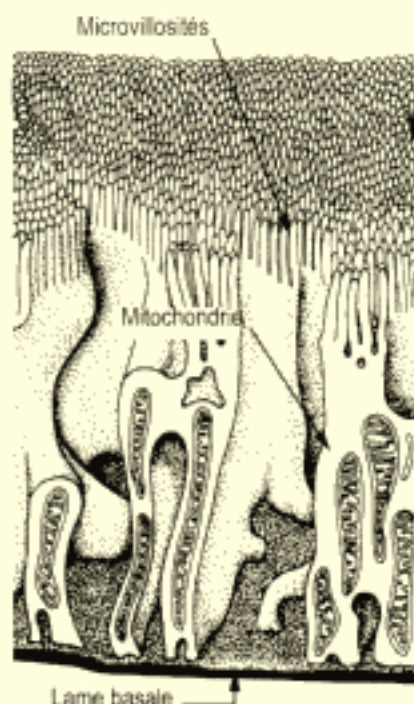


Fig. 13.2

Cellule épithéliale d'un tube excréteur rénal.

Les mitochondries sont de forme allongée, situées dans les compartiments que dessine la membrane plasmique basale.

B. *In vivo* après coloration vitale

Les mitochondries peuvent être étudiées, *in vivo*, en microscopie optique en utilisant leur capacité de concentrer certaines substances comme la ferritine, les lipides, les protéines. Un colorant *supra vital*, le *vert Janus*, est ajouté à une culture cellulaire. Le *vert Janus* est réduit en un leuco-dérivé (dérivé incolore) dans le cytoplasme. Il pénètre dans les mitochondries où il s'accumule et où son oxydation lui redonne sa teinte.

C. *In vivo* en microscopie en contraste de phase (fig. 13.3 et 13.4)

1. Mouvements des mitochondries

Elles sont animées de mouvements incessants (déplacement, modification de taille ou de forme) plus ou moins rapides. Les mitochondries se recourbent, se redressent, subissent des mouvements oscillatoires, s'enroulent, se tordent, se fragmentent en bâtonnets plus courts ou bien fusionnent en bâtonnets plus longs, ou se ramifient.

Pendant la *mitose* ou la *méiose*, les mitochondries modifient leur comportement : elles se disposent en dehors du fuseau mitotique, dans la partie moyenne de la cellule. Elles *interrompent leurs mouvements*.

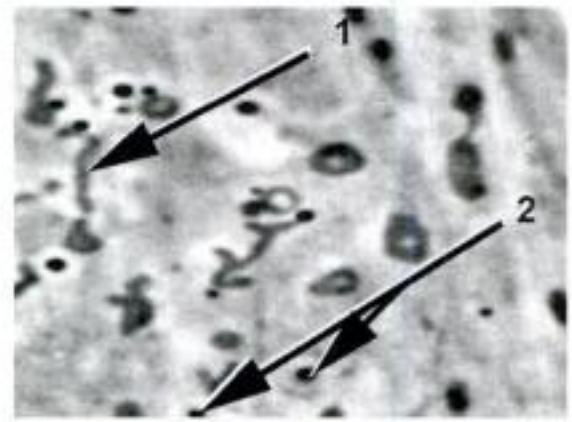


Fig. 13.3

Mitochondries observées en contraste de phase.

1. Structure filamenteuse. 2. Structure granulaire.

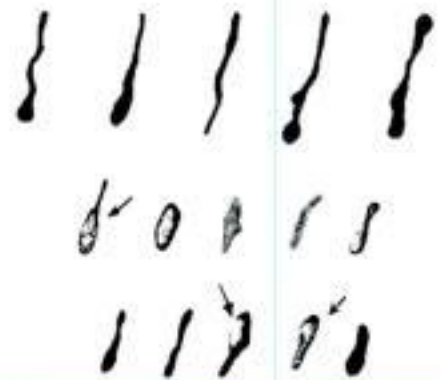


Fig. 13.4

Microcinématographie en accéléré.

Modification de la forme des mitochondries de cellules en culture (Chèvremont).

La plasmodiérèse les répartit d'une manière approximativement égale entre les deux cellules filles.

Dans quelques cellules, les *mitochondries* sont *immobiles*, par exemple dans la pièce intermédiaire située entre la tête et le flagelle du spermatozoïde, dans les compartiments limités par des invaginations de la membrane basale des tubes excréteurs du rein (tubes contournés), dans le muscle strié, etc.

2. Origines des mouvements mitochondriaux

Les courants cytoplasmiques n'interviennent pas dans ces mouvements. Les mouvements de déplacement et les modifications morphologiques dépendent des *protéines motrices* (kinésine et dynéine), qui se fixent par une de leurs extrémités à la mitochondrie et par l'autre à un élément du cytosquelette.

III. Structure en ME et constitution biochimique

A. Organisation

La mitochondrie est constituée par une enveloppe et une matrice. L'enveloppe, ou paroi mitochondriale, comprend une membrane externe, une chambre externe ou espace intermembranaire, une membrane interne qui limite la chambre interne ou matrice mitochondriale (fig. 13.5).

Hidden page

perméabilité). Ils reconnaissent les séquences d'adressage des protéines d'origine cytosolique destinées à la mitochondrie. Par exemple, les *ADN* et *ARN polymérases mitochondriales*, qui sont synthétisées dans le cytosol, sont reconnues par ces récepteurs d'importation (voir « Importation des protéines dans les mitochondries », p. 368) ;

- des *complexes d'importation* des protéines à destination mitochondriale *Tom 4* (*Translocase outer membrane* ; translocase de la membrane externe), qui constituent un canal transmembranaire associé à trois petites protéines, les protéines *Tom 5*, *6* et *7* ;
- des *complexes d'importation du cholestérol*, nécessaires à la synthèse des stéroïdes qui se déroule en partie dans la mitochondrie ;
- la *protéine Bcl-2* (*B cell lymphoma* ; lymphome à cellules B) dont la surexpression bloque l'apoptose. Cette molécule est codée par un proto-oncogène *Bcl-2* isolé à partir d'un lymphome à cellules B. Elle est insérée dans la membrane externe, possède une extrémité aminoterminal située dans le cytoplasme (cette molécule existe également dans la membrane externe du noyau et en plus faible quantité dans la face externe du réticulum endoplasmique) ;
- une *acyl-CoA synthétase* : elle active les acides gras (en présence d'ATP et de coenzyme A) en les transformant en acyl-CoA ;
- des *MAP* : il s'agit de protéines qui sont capables de se lier aux microtubules : ces liaisons sont ATP-dépendantes ;
- des molécules de *monoamines oxydases*, enzymes contenant une flavine qui catalyse la désamination oxydative des amines ;
- des molécules de *cytochrome b_5* qui participent aux réactions de transfert d'électrons avec une grande variété de protéines ;
- des molécules de *mitofusines*, une famille de protéines qui intervient dans la fusion des mitochondries.

C. Chambre externe ou espace intermembranaire

Cet espace, d'une épaisseur comprise entre 4 et 7 nm, est peu dense au rayonnement électronique. Il communique avec la lumière des crêtes mitochondriales. Il renferme :

- des *protons H^+* qui proviennent du fonctionnement des *complexes I, III et IV* de la chaîne respiratoire (voir « Respiration cellulaire », p. 372). Ces protons jouent un rôle capital dans la phosphorylation de l'ADP ;
- des molécules de *cytochrome c* localisées sur la face externe de la membrane interne. Cette protéine transfère un seul électron à la fois : elle est dotée d'un groupe prosthétique hème. Sa libération dans le cytoplasme induit l'apoptose ;
- des molécules d'une taille inférieure à 10 kDa.

Il contient des composants impliqués dans l'apoptose, les procaspases 2, 3, 9, *AIF* : ces molécules sont libérées dans le cytosol par des facteurs apoptotiques.

L'espace intermembranaire disparaît au niveau des zones d'accolement transitoires entre les deux membranes. Ces zones sont occupées par les complexes d'importations *Tim* (*Translocase inner membrane* ; translocase de la membrane interne) et *Tom*.

Hidden page

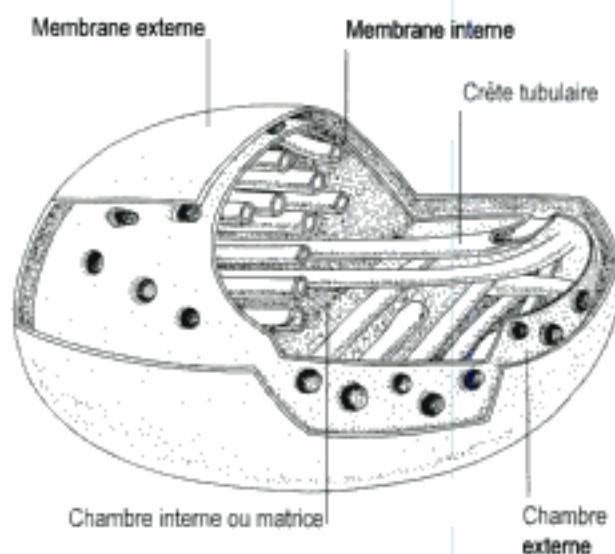


Fig. 13.7

Représentation tridimensionnelle de la structure d'une mitochondrie à crête tubulaire.

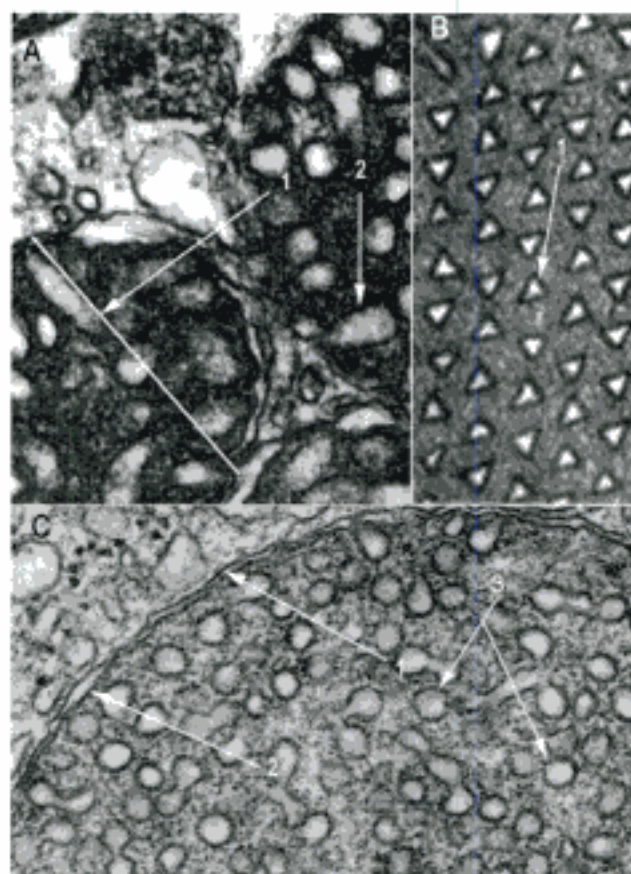


Fig. 13.8

Quelques formes des crêtes mitochondriales.

A. 1. Mitochondrie à matrice dense. 2. Crête tubulaire.

B. 1. Crête prismatique.

C. 1. Membrane externe. 2. Membrane interne. 3. Crête tubulaire.

b. Surface des crêtes

La surface développée par la membrane interne mitochondriale est considérable : cette surface est d'autant plus élevée que les mitochondries sont actives sur le plan énergétique. Dans les mitochondries des muscles alaires des insectes, cette surface peut atteindre 400 m^2 par gramme de protéines mitochondriales, dans le myocarde 250 m^2 , dans le

Hidden page

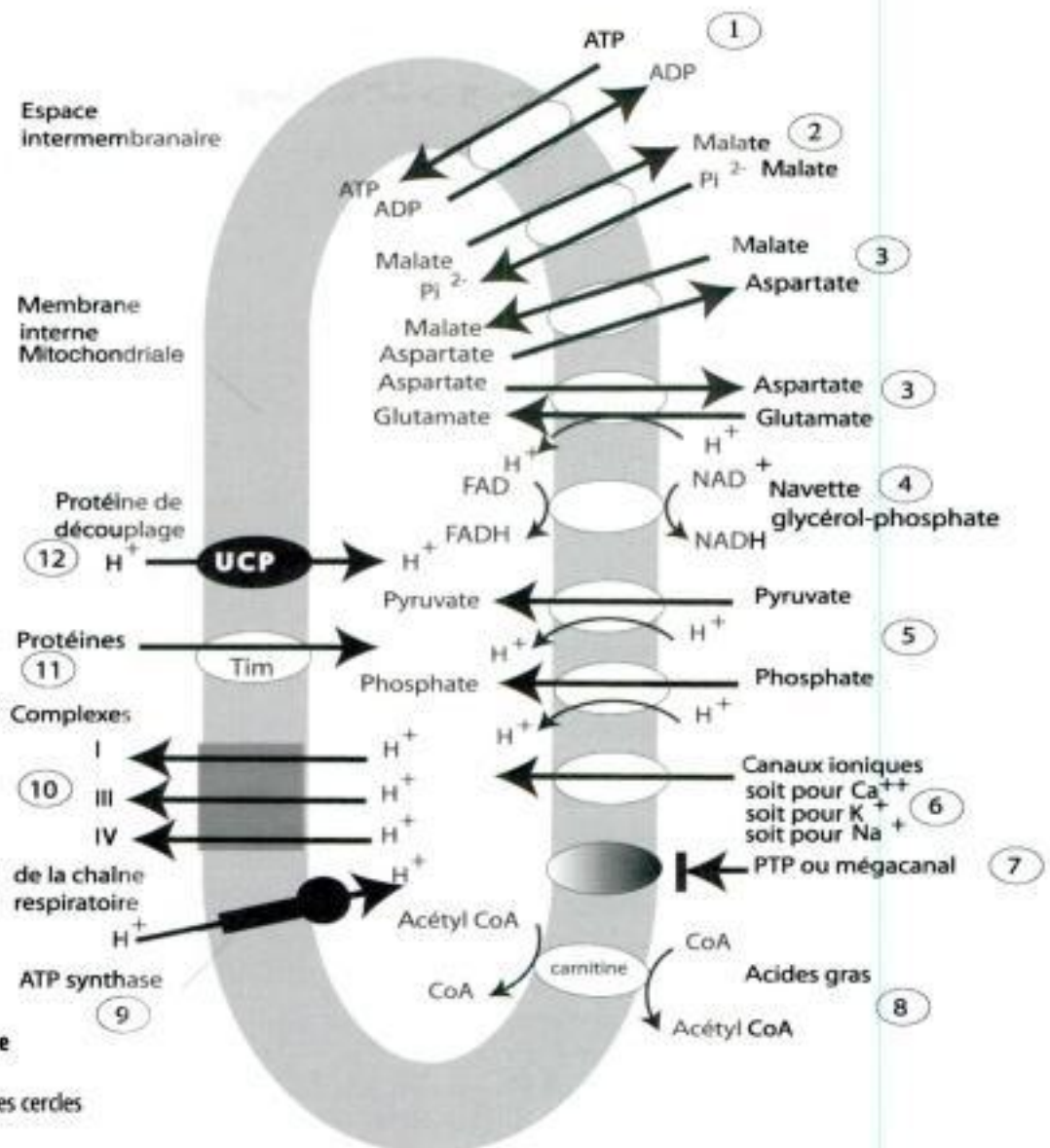


Fig. 13.9

Composition protéique de la membrane.

Les chiffres au centre des cercles renvoient au texte.

- des *symports métabolites/ H^+* spécifiques : tous les métabolites passent obligatoirement par l'intermédiaire de cotransporteurs. Ils assurent le transport actif du pyruvate, des acides gras, des ions phosphate et du calcium. L'énergie nécessaire est fournie par le transport des protons dans le sens du gradient de concentration (5) ;
- des *canaux ioniques* qui assurent le transport du sodium, du potassium et du calcium (6) ;
- des *PTP* encore appelés mégacanaux, qui s'ouvrent, sous l'influence de facteurs apoptotiques, pour laisser s'échapper de la matrice des quantités très importantes de calcium (7) ;
- des molécules de *carnitine acyl-transférase I et II* et une translocase qui interviennent dans le transfert des acyl-coenzymes A à travers la membrane mitochondriale interne (8) ;
- l'*ATP synthase* (F_0/F_1 -ATPase, H^+ ATPase) qui, par phosphorylation de l'ADP, produit l'ATP. Elle existe non seulement dans les mitochondries, mais aussi dans la membrane des thylakoïdes des chloroplastes, dans

la membrane plasmique des bactéries. Elle correspond à 15 % des protéines de la membrane interne. L'ATP-synthase est un complexe formé d'une sphère *facteur F₁* et d'un *facteur F₀* de couplage enchâssé dans la membrane par de fortes liaisons hydrophobes. Le facteur *F₁* a un diamètre de 4 nm : il est situé du côté de la matrice. Cette protéine globulaire est constituée par trois sous-unités α et trois sous-unités β disposées en couronne autour d'une sous-unité γ (9) (fig. 13.10) ;

- des *transporteurs d'électrons et de protons* : ils regroupent le complexe I ou le NADH-déshydrogénase, le complexe II ou succinate-déshydrogénase, le complexe III ou complexe b-c₁, le complexe IV ou cytochrome oxydase. Ces quatre complexes constituent la *chaîne respiratoire*. Seuls les complexes I, III et IV transportent les protons (10) ;
- les *complexes d'importation* des protéines Tim (11) ;
- les *protéines de découplage* qui permettent le passage des protons de la chambre externe vers la matrice et inhibent ainsi la formation d'une différence de potentiel : l'ATP synthase ne peut plus phosphoryler l'ADP alors que le transport d'électrons est toujours actif (12) ;
- des *protéases* et des *GTPases* qui interviennent dans l'importation des protéines et dans leur maturation.

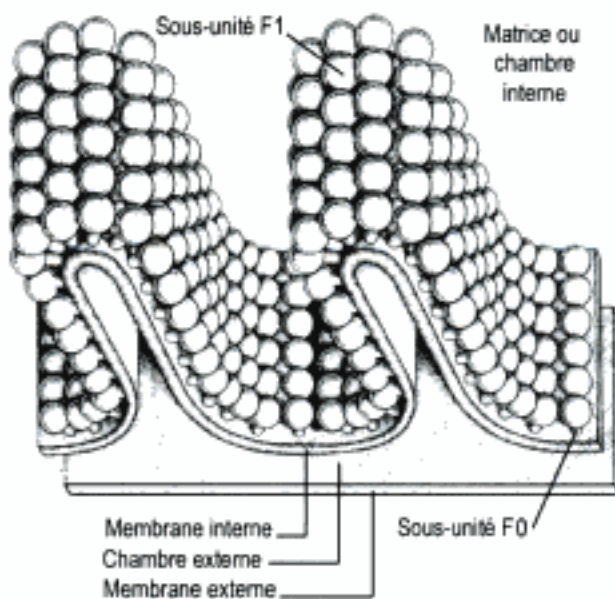


Fig. 13.10
Unités tripartites.
D'après Krstic.

4. Composition lipidique

La membrane interne mitochondriale ne contient pas de cholestérol et elle est riche en *cardiolipine* (diphosphatidylglycérol), un phospholipide inhabituel. Ces deux caractères se retrouvent dans la membrane plasmique des bactéries. Les régions contenant des molécules de cardiolipine sont imperméables aux protons H⁺ mais perméables aux lipides cytosoliques qui peuvent pénétrer dans la matrice pour y subir la β -oxydation.

E. Matrice mitochondriale

La matrice occupe la chambre interne. Elle est légèrement dense en microscopie électronique et finement granuleuse. La matrice, en fonction

de l'activité de la mitochondrie, peut revêtir deux aspects. Elle peut être *orthodoxe*, ce qui correspond à l'aspect habituel tel qu'il vient d'être décrit : l'activité fonctionnelle est importante, l'ATP est en excès. En revanche, la mitochondrie peut avoir un aspect condensé qui se traduit par une augmentation très importante de l'espace intermembranaire, des compartiments contenus dans les crêtes et de la densité de la matrice. Cette forme traduit un excès d'ADP, une phosphorylation oxydative réduite. Elle peut être physiologique ou induite par des inhibiteurs du transport des électrons comme le cyanure de potassium.

La matrice mitochondriale renferme :

- des molécules d'ADN (*ADNmt*) circulaire ;
- des molécules d'ARN messager (*ARNmt*) et des ARN de transfert ;
- des *mitoribosomes* qui ressemblent aux ribosomes bactériens ; ils sont visibles après coloration négative. Ils diffèrent des ribosomes cytoplasmiques par leur *sensibilité à l'action d'antibiotiques* comme le chloramphénicol, l'érythromycine, la streptomycine et la néomycine qui bloquent leur activité de synthèse protéique. Ils diffèrent également par leur taille qui est plus petite ;
- toutes les enzymes impliquées dans la réplication, la transcription et la traduction de l'ADNmt ;
- des *granulations denses*, irrégulières, avant un diamètre de 50 nm au maximum, formées par l'accumulation de cations divalents, calcium et magnésium ;
- des enzymes impliquées dans l'*oxydation* de l'acide pyruvique, dans la β -oxydation des acides gras ;
- les enzymes impliquées dans le cycle de *Krebs*, l'hélice de *Lynen* ;
- des molécules de *NADH* et de *NADPH* ; elles interviennent dans le transport des électrons.

F. Renouvellement des mitochondries

Le renouvellement des mitochondries se fait par une division qui comprend deux événements principaux :

- la *duplication de l'ADNmt* : elle peut aboutir à la formation d'une cinquantaine ou d'une centaine de copies ;
- la *mitochondriodièrese* qui est comparable à la cytodiérèse (fig. 13.11 et 13.12).

La mitochondrie, après multiplication de l'ADNmt, peut alors se diviser sans avoir à synthétiser de nouvelles molécules d'ADN. Les mitochondries néoformées contiennent généralement 1 à 5 copies du chromosome mitochondrial. La division se fait soit par formation d'une cloison constituée par une membrane interne et une membrane externe, soit par constriction. Dans le premier cas, une invagination se forme en un point de la membrane interne : elle pénètre dans la matrice et se développe de manière à séparer les deux mitochondries filles. Pour certains auteurs, la division par constriction serait due à la présence d'un appareil de division mitochondriale ayant la forme d'un anneau formé par une protéine apparentée à l'actine. Cet anneau serait situé au niveau de la partie moyenne de la mitochondrie, contre la face externe de la membrane externe. Des GTPases de la famille des *dynamines* interviendraient dans le clivage des mitochondries.

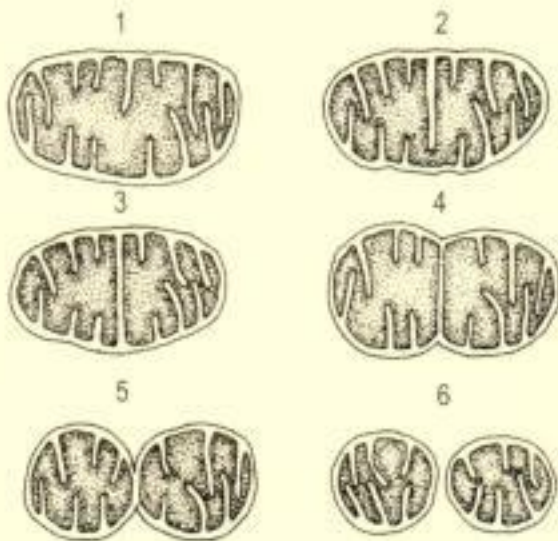


Fig. 13.11

Division d'une mitochondrie.

Formation d'une crête qui partage la mitochondrie puis mitochondriogenèse par striction au niveau de la crête néoformée.

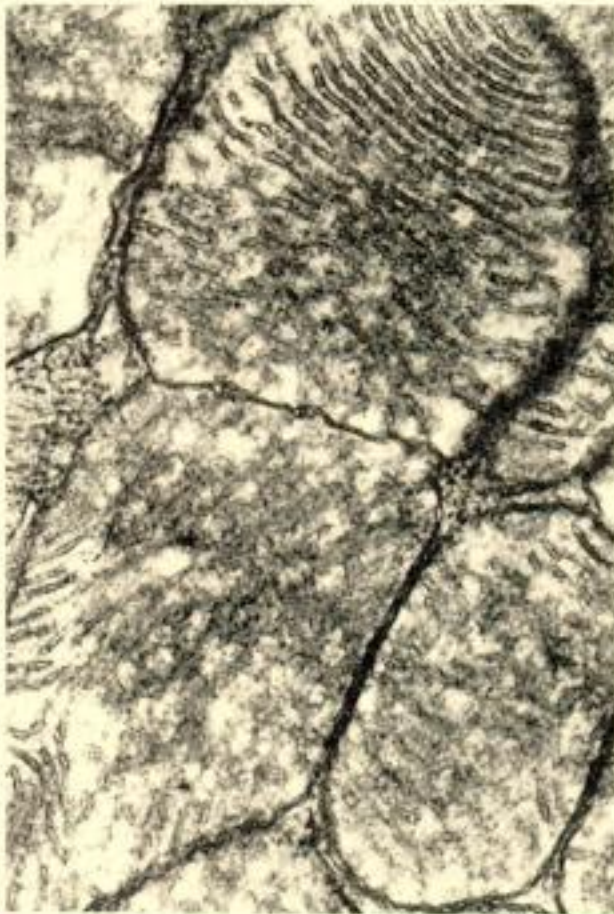


Fig. 13.12

Mitochondrie en cours de division (MET).

G. Fusion des mitochondries

Les mitochondries peuvent fusionner les unes avec les autres pour former des mitochondries ramifiées et volumineuses. Cette fusion dépend de la présence de protéines à activité GTPasiques, les *mitofusines*.

Hidden page

Hidden page

Hidden page

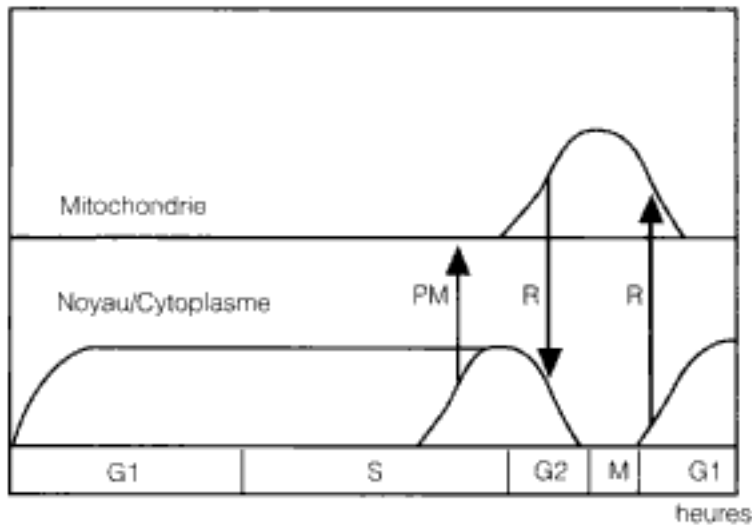


Fig. 13.14

Cycle de synthèse.

Synthèse protéique dépendant du noyau et des mitochondries au cours du cycle cellulaire. Le trait le plus fin représente la synthèse des protéines non mitochondriales. Le trait le plus épais représente la synthèse de protéines mitochondriales. R : répresseur. PM : protéines mitochondriales.

3. Troisième période : synthèse intramitochondriale des protéines mitochondriales

Cette période débute avec la *phase G2*, atteint son maximum au cours de la phase M et s'arrête au début de la phase G1. Les mitochondries produisent un répresseur qui arrête la synthèse de l'ARN messager, porteur du codage nécessaire à la synthèse extramitochondriale des protéines mitochondriales. Les protéines solubles préalablement formées (enzymes de la chaîne respiratoire et de la phosphorylation oxydative) sont assemblées par les protéines synthétisées par les mitochondries.

Cette troisième période ne peut être initiée que dans la mesure où le noyau produirait un facteur de réplication mitochondriale. Elle se termine grâce à l'action d'un répresseur des gènes nucléaires, élaboré par le génome mitochondrial.

VI. Importation des protéines dans les mitochondries

Cinq cents protéines sont synthétisées dans le cytosol et transférées aux mitochondries.

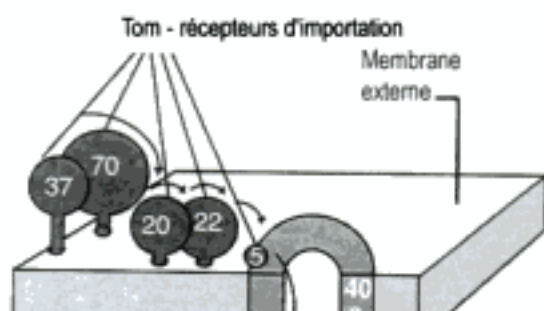
A. Signal d'adressage

La plupart des protéines mitochondriales synthétisées dans le cytosol sont des précurseurs (préprotéines) qui possèdent une séquence signal d'adressage aminoterminal, temporaire, amphiphile et fortement basique (fig. 13.15).

B. Rôle des chaperonnes

Les préprotéines qui émergent du ribosome se lient immédiatement à une protéine chaperonne cytosolique *MSF* (*Mitochondrial import Stimulation Factor* ; facteur mitochondrial d'activation de l'importation) ou *ctHsp70* (*cytosolic Heat shock protein* ; protéine cytosolique de choc thermique).

Hidden page



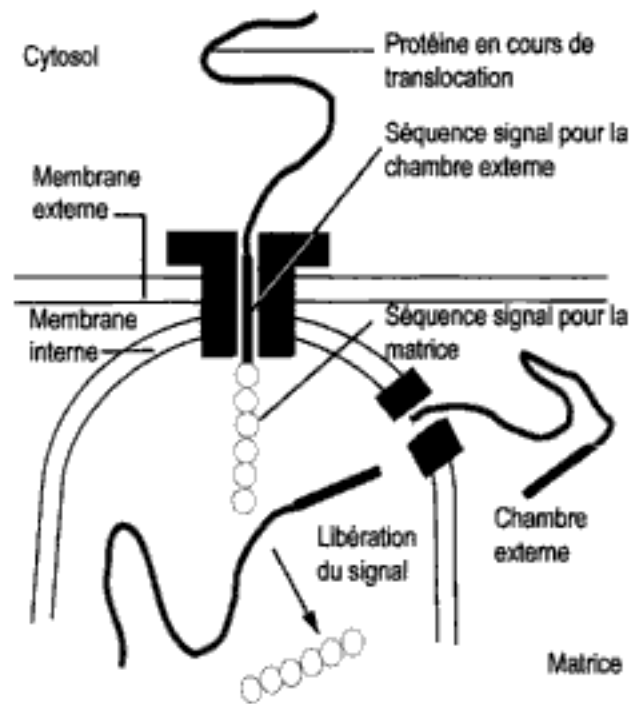


Fig. 13.17

Importation des protéines d'origine cytoplasmique dans la matrice.

Un peptide signal aminoterminal déclenche l'importation vers la matrice et un autre peptide signal, également aminoterminal, guide la protéine soit dans l'espace intermembranaire, soit dans la face externe de la membrane interne (par exemple le cytochrome c, de 13 kDa). La translocation dans la matrice s'effectue de la même manière que pour les protéines à destination de la matrice. Une protéase clive la séquence signal pour la matrice.

Les chaperonines *Hsp60* et *10* maintiennent la molécule importée dépliée.

La séquence signal pour l'espace intermembranaire se lie à une protéine réceptrice de la membrane interne qui provoque la translocation vers l'espace intermembranaire. Dans l'espace intermembranaire, une protéase clive la séquence signal d'origine mitochondriale, s'associe à la molécule importée pour former le cytochrome c.

Les *Hsp60* et *10* trient aussi certaines protéines destinées à la membrane interne et à l'espace intermembranaire.

VII. Importation des lipides

A. Phospholipides des membranes mitochondriales

Les lipides des mitochondries proviennent du réticulum endoplasmique lisse. La synthèse de la *phosphatidylsérine* se déroule dans la partie cytosolique de la membrane du REL. Une molécule de sérine se fixe sur un phosphatidyle : la réaction est catalysée par la phosphatidylsérine synthase. La phosphatidylsérine est ensuite transloquée, depuis son lieu de synthèse, par une fraction membranaire appelée MAM (*Mitochondrial-Associated Membrane* ; membrane associée à la mitochondrie) qui ressemble à une membrane du réticulum endoplasmique. La phosphatidylcholine, également synthétisée dans le réticulum endoplasmique lisse, est importée de la même manière.

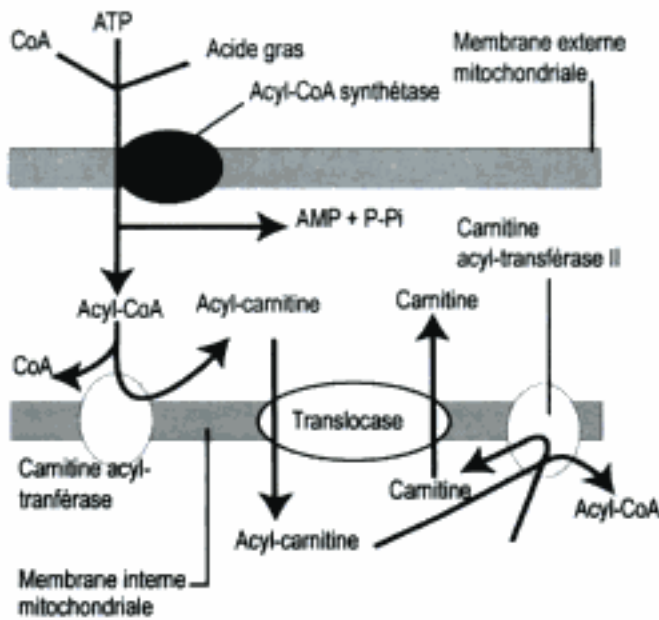


Fig. 13.18

Rôle de la carnitine dans l'importation des acides gras
(voir explication dans le texte).

B. Importation des acides gras dans la matrice

Les *acides gras* sont *activés* avant de pénétrer dans la matrice mitochondriale (fig. 13.18).

Cette activation se déroule en deux étapes :

- l'acide gras réagit avec l'ATP pour former un acyl-adénylate :

$$R-COO^- + ATP \rightarrow R-CO-AMP + PP_i$$
- l'acyl-adénylate $R-CO-AMP$ est ensuite transformé en acyl-coenzyme A et en AMP :

$$R-CO-AMP + HS-CoA \rightarrow R-O-S-CoA + AMP$$

Cette activation se déroule dans la membrane mitochondriale externe. Les molécules d'acyl-CoA à longue chaîne traversent difficilement la membrane mitochondriale interne. Elles sont transportées après conjugaison à la carnitine, un composé formé à partir de la lysine. Il se forme ainsi une acylcarnitine. Une translocase permet à l'acylcarnitine de traverser la membrane interne. Sur la face matricielle de la membrane interne, le groupe acyle est rendu au CoA : cette réaction est catalysée par la carnitine acyl-transférase II. La carnitine retourne à la face cytosolique par la translocase, tandis qu'une molécule d'acylcarnitine pénètre dans la matrice mitochondriale. Les acides gras, au cours d'une β -oxydation, donnent naissance à des résidus acétyle (fig. 13.19).

VIII. Fonctions des mitochondries

A. Respiration cellulaire

1. Définition

La respiration est un processus créateur d'ATP au cours duquel un composé inorganique (tel que l' O_2) sert d'accepteur ultime d'électrons. Le

2. Principale source d'énergie

Les mitochondries fournissent la quasi-totalité de l'énergie dépensée par la cellule. La principale source d'énergie utilisée par la mitochondrie provient de la glycolyse (et également, à un degré moindre, de la β -oxydation des lipides). La glycolyse dégrade le glucose en pyruvate. Le pyruvate contient beaucoup d'énergie libre. Cette énergie est extraite au cours d'une oxydation complète ou *respiration cellulaire* : elle se déroule dans la mitochondrie, elle aboutit à la formation de six molécules de CO_2 et de six molécules d' H_2O à partir d'une molécule de glucose $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.

Les *phénomènes respiratoires* comprennent :

- la dégradation complète du pyruvate par le cycle de Krebs mais aussi par la β -oxydation des acides gras ou hélice de Lynen ;
- le transport des électrons cédés le long d'une chaîne de transporteurs ;
- la *synthèse de l'ATP*.

3. β -oxydation des acides gras

Une acyl-CoA synthétase située dans la membrane interne (en présence d'ATP et de coenzyme A) transforme les acides gras en acyl-CoA. L'acyl-CoA, ainsi formé, subit alors, dans la matrice, la β -oxydation qui regroupe une succession de réactions enzymatiques (fig. 13.19).

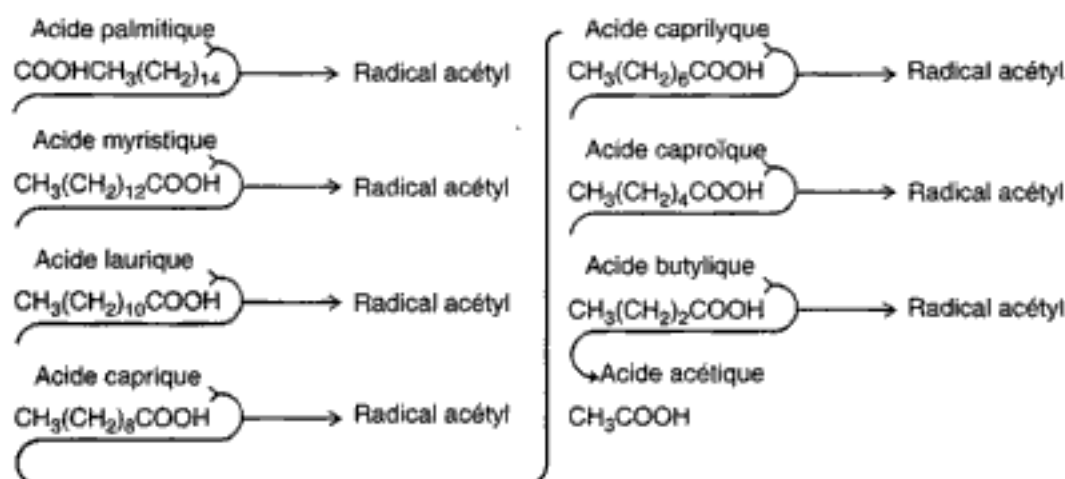


Fig. 13.19
Hélice de Lynen.

- déshydrogénation sous l'action d'une acyl-CoA-déshydrogénase, qui forme une double liaison α - β ;
- formation d'un dérivé L- β -hydroxylé, par action de l'énoyl-CoA hydratase (crotonase) ;
- formation d'un dérivé β -cétonique, par action de la L- β -hydroxyacyl-CoA déshydrogénase ;
- détachement d'un fragment dicarboné sous forme d'acétyl-CoA par la β -céthiolase.

L'oxydation se déroule ainsi par étapes successives ; à chaque étape, l'acyl-CoA perd deux atomes de carbone (hélice de Lynen).

Chaque tour de spire de l'hélice de la β -oxydation permet la formation de cinq ATP (par maillon de deux carbones détachés de la molécule d'acide gras). L'acétyl-CoA est ensuite oxydé par le cycle de Krebs avec formation de 12 ATP. L'oxydation complète d'un maillon à deux atomes de carbone fournit donc 17 ATP. Ainsi l'oxydation complète de l'acide stéarique libère 147 ATP.

La β -oxydation des acides gras, dans les mitochondries, intéresse des acides gras dont les chaînes sont plus courtes que celles qui sont dégradées dans les peroxysomes. Cette dégradation aboutit à la formation de radicaux acétyle qui alimentent le cycle de Krebs.

4. Cycle de Krebs

Le cycle de Krebs (cycle citrique, cycle tricarboxylique) est amphibolique : il se déroule à la fois sur la voie anabolique et la voie catabolique.

Toutes les étapes de ce cycle ont lieu dans la matrice, sauf celle concernant le FAD (FAD : flavine adénine dinucléotide) qui est lié à la succinodéshydrogénase, une protéine de la membrane interne.

Le cycle de Krebs (fig. 13.20) transforme les radicaux acétyle en CO_2 , atomes d'hydrogène et électrons suivant une séquence organisée de réactions enzymatiques, avec l'acide oxaloacétique comme substrat initial et terminal. Le produit final et commun du catabolisme des nutriments (glucides, protides, lipides) est l'acide acétique, dont le radical acétyle se combine avec le CoA. L'acétyl-CoA cède le radical acétyle CH_3CO à l'acide oxaloacétique : ainsi commence une succession de réactions d'oxydation qui transforment chaque radical acétyle en deux molécules de CO_2 , huit atomes d'hydrogène et huit électrons.

Les atomes d'hydrogène et les électrons libérés à chaque cycle réduisent NAD^+ matriciel (nicotinamide adénine dinucléotide) et FAD^{++} (flavine adénine dinucléotide). Ces coenzymes agissent comme agents de transfert d'hydrogène et d'électrons en vertu d'une oxydation et d'une réduction.

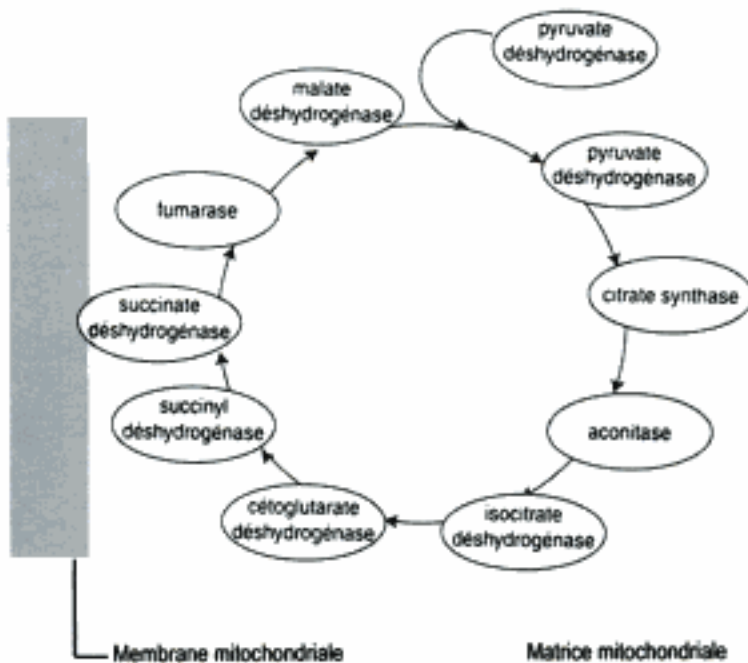


Fig. 13.20
Le cycle de Krebs.

tion réversible : $\text{NAD} \leftrightarrow \text{NADH}$, $\text{FADH} \leftrightarrow \text{FADH}_2$. Dans le cytoplasme, le NAD cytosolique est réduit en NADH par la glycolyse.

Le rendement du cycle de Krebs est élevé. Par exemple, une molécule de glucose permet l'obtention de 38 molécules d'ATP, alors que la glycolyse, en anaérobiose, n'en fournit que deux.

5. Chaîne de transport d'électrons

a. Les quatre complexes

C'est un ensemble ordonné d'enzymes, constitué par :

- la NADH réductase qui constitue le *complexe I* ;
- la succinate-Q réductase ou *complexe II* ;
- la cytochrome c réductase-cytochrome b-c1 ou *complexe III* ;
- la cytochrome c-oxydase ou *complexe IV*.

Les *électrons libérés* par le cycle de Krebs (ou par l'hélice de Lynen) sont cédés au NAD ou au FAD qui sont réduits en NADH et FADH₂ : NADH et FADH₂ cèdent ensuite leurs électrons aux quatre complexes de la chaîne respiratoire, contenus dans la membrane interne mitochondriale. Le transport des électrons libère l'énergie nécessaire à l'exportation des protons H⁺ dans la chambre externe (pour plus de précision sur le cycle de Krebs, l'hélice de Lynen et l'origine et le transport des électrons voir l'ouvrage de *Biochimie générale* de J.-H. Weil, Masson).

b. Pompage des protons hors de la matrice mitochondriale

Le transport d'électrons se fait à travers ces quatre complexes protéiques. Il provoque le pompage de protons hors de la matrice. Les *protons s'accumulent* dans l'*espace intermembranaire*. Il se crée donc une force proton-motrice transmembranaire, constituée par un potentiel transmembranaire et par un gradient de pH.

Le *complexe I* catalyse le transfert d'une paire d'électrons de la NADH à l'ubiquinone.

Le *complexe II* permet la livraison d'électrons de faible énergie du succinate au FAD, puis à l'ubiquinone.

Le *complexe III* catalyse le transport d'électrons de l'ubiquinone réduite (UQH) au cytochrome c.

Le *complexe IV* constitue l'étape finale du transport d'électrons dans la chaîne d'oxydation.

c. Formation du gradient de protons

La quantité d'énergie libérée, lors de chacune des combinaisons des électrons avec les complexes, est utilisée pour l'exportation des protons H⁺ dans l'espace intermembranaire. Seuls les *complexes I, III, IV* interviennent dans cette exportation.

Le transport des protons dans l'espace intermembranaire détermine un *gradient de concentration* des protons. La face externe de la membrane interne devient positive, tandis que la face matricielle devient négative.

6. Synthèse de l'ATP

a. ATPases de type F (ATP synthétases)

► Définition

L'ATPase mitochondriale est une ATPase de type F : c'est une pompe à protons qui peut soit hydrolyser de l'ATP pour pomper des protons, soit utiliser le gradient de protons pour faire de l'ATP mais elle ne peut pas synthétiser de l'ATP et faire un gradient de protons. Elle existe également dans la membrane plasmique des bactéries et dans la membrane interne des chloroplastes.

► Structure

L'ATP synthase est constituée par deux éléments, F₀ et F₁ (fig. 13.21).

F₀ a la forme d'une tige qui s'insère dans la membrane interne mitochondriale. Elle assure le passage du flux de protons. F₁ est globulaire ou sphérique. Elle est responsable de la synthèse de l'ATP.

Le complexe F₀ est constitué par 12 à 15 sous-unités protéiques : une sous-unité α (un canal traversé par le flux d'électrons), deux sous-unités β , 9 à 12 monomères c qui interviennent dans le déplacement des protons. F₁ est formé par l'association de 3 sous-unités α , de trois sous-unités β , et des sous-unités γ , δ et ϵ . Les sous-unités α et β constituent une sphère dans laquelle elles sont disposées en alternance : elle forme un manchon dont l'axe est occupé par la sous-unité gamma.

Les sous-unités α et β possèdent chacune un site de fixation situé à la surface de l'unité F₁. Une unité F₁ possède donc six sites capables de fixer un nucléotide adénylique. Les sites des sous-unités α sont occupés en permanence par l'ATP : ils ne phosphorylent pas de l'ADP. Seuls les sites des sous-unités β catalysent la synthèse de l'ATP.

► Mode de fonctionnement

▷ Flux de protons

Le flux de protons, en traversant F₀, provoque une rotation de la sous-unité γ . Cette énergie mécanique est responsable de la modification de la conformation des sous-unités β et de leur site de fixation.

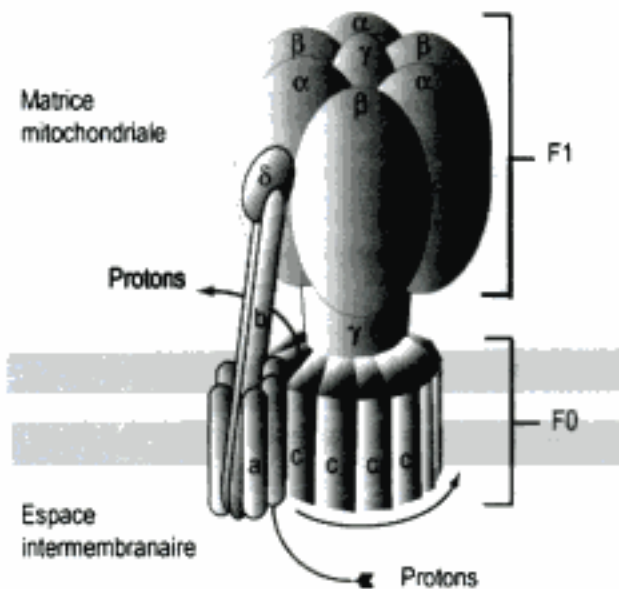


Fig. 13.21

L'ATPase mitochondriale.

L'ATP synthase est un nanomoteur rotatif à protons. Le flux d'électrons à travers la sous-unité γ , en direction de la matrice mitochondriale, provoque une rotation de la sous-unité γ . Le flux de protons traverse la sous-unité a et ressort dans la matrice après avoir traversé une sous-unité c . La rotation provoquée par cette traversée modifie la configuration des sites catalytiques portés par les sous-unités β (fig. 13.22) et déclenche la phosphorylation de l'ADP.

Hidden page

Hidden page

la glycine, la proline, la sérine, la tyrosine. Les mitochondries sont le siège du début de la synthèse de divers acides aminés non essentiels. Des intermédiaires du cycle de Krebs, l'acide malique, l'acide oxaloacétique, l'acide α -cétoglutarique sont utilisés : par exemple, l'asparagine et la thréonine dérivent de l'acide oxaloacétique, et la glutamine, la proline et l'arginine de l'acide α -cétoglutarique. La synthèse ne fait que débiter dans la mitochondrie : elle se poursuit dans le cytosol.

C. Rôle des mitochondries dans la thermogénèse

Les protéines UCP ou thermogénines (*Uncoupling Protein* ; protéine de découplage) interviennent dans la diminution du gradient de protons. Elles constituent une famille de transporteurs GDP-dépendants, qui découplent l'unité d'oxydation de la synthèse de l'ATP. Ces protéines, présentes dans la graisse brune, sont des molécules clés dans la thermogénèse chez le nouveau-né et les animaux hibernants.

L'activation des protéines UCP fait disparaître le gradient de protons. Cette disparition aboutit à l'interruption de la synthèse de l'ATP et à la production de chaleur. La thermogénine constitue des pores dans la membrane interne mitochondriale : ces pores assurent librement le passage des protons de l'espace intermembranaire en direction de la matrice. Les protons ne peuvent plus s'accumuler dans la chambre externe : la synthèse d'ATP n'est donc plus possible. L'énergie qui provient du catabolisme se transforme en énergie calorifique.

D. Régulation du calcium cytosolique

Les mitochondries sont, avec le réticulum endoplasmique, le principal réservoir de calcium. Cependant, le réticulum endoplasmique en contient moins. Les mitochondries jouent un rôle crucial dans la détermination du taux de calcium cytosolique. La mitochondrie est dotée de mécanismes de transport du calcium, localisés dans la membrane interne. Il s'agit des canaux ioniques, des échangeurs $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ et des PTP dénommés mégacanaux par un certain nombre d'auteurs.

E. Concentration de substances dans les mitochondries

1. Concentration des colorants

La coloration supra-vitale par le vert Janus (colorant vital en microscopie optique) est un exemple classique. Le vert Janus pénètre dans la cellule vivante : les enzymes cytoplasmiques le réduisent en un leuco-dérivé (dérivé incolore), qui est concentré dans les mitochondries où il est réoxydé. Cette réoxydation lui redonne sa couleur primitive.

La rhodamine, visible seulement en fluorescence, colore également les mitochondries par accumulation dans leur matrice.

2. Concentration de la ferritine

Les cellules réticulaires phagocytent des hématies, récupèrent le fer contenu dans l'hémoglobine et le stockent sous la forme de ferritine. Les molécules de ferritine sont cédées aux jeunes érythroblastes situés autour des cellules réticulaires (cellules souches de la lignée rouge). Elles pénètrent dans les mitochondries où elles s'accumulent. Puis, elles sont

brisées en molécules plus petites : les mitochondries éclatent et libèrent des granules contenant des molécules de ferritine qui interviennent dans la synthèse de l'hémoglobine.

3. Dépôts lipidiques

Après une courte période de jeûne, les mitochondries des hépatocytes établissent des rapports étroits avec les vacuoles lipidiques. À la surface de la gouttelette lipidique, des zones moins denses évoquent l'utilisation des lipides par la mitochondrie. En fait, au cours du jeûne, les glucides diminuent : les mitochondries font appel aux lipides qui sont oxydés activement et dégradés pour fournir des radicaux acétyle utilisés dans le cycle de Krebs.

4. Accumulation des protéines

Dans les ovocytes de *Planorbis*, les protéines s'accumulent sous une forme cristalline. Ces cristallisations protéiques sont formées de molécules de 6 nm de diamètre, séparées par des espaces de 8,5 nm.

F. Contrôle de l'apoptose

Les mitochondries jouent un rôle clé dans la régulation de l'apoptose. La phase effectrice de l'apoptose se caractérise par l'ouverture des pores des membranes mitochondriales. Cette ouverture provoque un gonflement des mitochondries, associé à une série d'événements qui regroupe :

- l'augmentation massive du calcium cytosolique par fuite du calcium ;
- la chute du potentiel transmembranaire de la mitochondrie ;
- l'arrêt de la phosphorylation oxydative ;
- la libération de molécules apoptogènes mitochondriales, telles que le cytochrome c (situé sur la face externe de la membrane interne mitochondriale), les caspases 3 et 9, ainsi que le facteur AIF. Le cytochrome c, libéré dans le cytosol lors de l'apoptose, ne gagne pas le noyau : en revanche, AIF quitte l'espace intermembranaire pour se rendre dans le noyau et s'y accumuler sélectivement.

La libération des molécules apoptogènes est sous le contrôle de membres de la famille *bcl-2*. Les mitochondries représentent le site d'action le plus important de ces protéines qui sont des régulateurs pivots du mécanisme de l'apoptose. Les protéines *bcl-2* peuvent bloquer la sortie du cytochrome c et donc empêcher l'apoptose. En l'absence de ces protéines, l'apoptose est déclenchée (voir chapitre 12).

IX. Phylogénèse des mitochondries

Les cellules pré-eucaryotes étaient des cellules anaérobies. Il y a environ un milliard et demi d'années, elles auraient capturé une bactérie qui est à l'origine des mitochondries actuelles. Cette bactérie devenue mitochondrie vit en symbiose avec la cellule. Cette théorie porte le nom de *théorie endosymbiotique*.

Deux bactéries actuelles présentent des caractères biochimiques et fonctionnels voisins des mitochondries : il s'agit de *Rhodospseudomonas sphaeroides* et de *Pararococcus denitrifans*. En effet, ces bactéries, tout comme les mitochondries, possèdent :

- la même chaîne respiratoire qui, chez les bactéries, est localisée sur la face interne de la membrane plasmique ;
- une composition membranaire très voisine ;
- une sensibilité identique aux antibiotiques : le chloramphénicol, la kanamycine, la rifampicine bloquent la synthèse des protéines, aussi bien chez ces bactéries que chez les mitochondries ;
- un ARNmt initiateur qui porte la méthionine ;
- une sensibilité identique aux substances toxiques comme l'amytal, la roténone, l'atractyloside.
- les mitoribosomes sont différents des ribosomes bactériens.

La théorie endosymbiotique n'explique cependant pas un certain nombre de différences entre les mitochondries et les bactéries ; en effet :

- la polymérase bactérienne renferme six chaînes protéiques alors que la polymérase mitochondriale n'en possède qu'une seule ;
- les gènes mitochondriaux sont localisés non seulement dans l'ADN mitochondrial, mais également dans l'ADN nucléaire. Il est possible que de nombreux gènes mitochondriaux aient migré vers le noyau.

Les mitochondries sont vraisemblablement d'origine bactérienne. Elles ont pénétré dans le cytoplasme des cellules pré-eucaryotes vivant en anaérobiose. Une symbiose entre ces deux cellules a permis cette évolution remarquable qui est le propre des cellules eucaryotes.

X. Pathologie d'origine mitochondriale

Un certain nombre de maladies mitochondriales dépendent soit d'une mutation ou d'une délétion de l'ADNmt, soit d'un mauvais fonctionnement mitochondrial en rapport avec des modifications de leur environnement.

A. Mutations de l'ADNmt

1. Influence de l'hétéroplasmie dans l'expression phénotypique des mutations de l'ADNmt

L'*hétéroplasmie* est la coexistence de molécules d'ADNmt normales et mutées dans une même cellule.

Des *mutations* ou des *délétions identiques* de l'ADNmt provoquent des maladies mitochondriales dont l'*expression phénotypique* est extrêmement variable suivant les malades. Par exemple, une mutation ponctuelle de l'ADNmt (A3243G dans l'ARNt^{leu}) est associée au syndrome MELAS (*Mitochondrial Encephalopathy-Lactic Acidosis-Stroke-like episodes*). Une telle mutation est retrouvée dans des familles dont les membres sont atteints de diabète et de surdité (Agnès Rötig).

Cette variabilité semble trouver son explication dans les faits suivants. Les cellules des mammifères et en particulier les cellules humaines normales contiennent, chacune, environ un millier de molécules d'ADNmt absolument identiques. Les *différences d'expression phénotypique* seraient dues à l'*hétéroplasmie*. Cette hétéroplasmie varie selon les tissus : les organes les plus touchés contiennent un plus grand nombre de molécules mutées. Des protéines anormales sont synthétisées, si les molécules d'ADNmt mutées sont plus nombreuses que les molécules non mutées.

2. Exemple de pathologie liée à une mutation d'un gène mitochondrial

L'*ataxie de Friedreich* atteint une personne sur 50 000. Elle se caractérise par une incoordination des mouvements, une myasthénie (faiblesse musculaire) et assez fréquemment une hypertrophie cardiaque. Elle est due à l'absence ou à la *mutation d'un gène mitochondrial* qui code la *frataxine*, une protéine de la membrane externe de la mitochondrie. La frataxine inhibe la pénétration du fer dans la matrice mitochondriale. L'accumulation de fer, agent oxydant, induit la formation de radicaux libres dans la matrice, toxique pour la chaîne respiratoire. La production d'énergie devient insuffisante pour pourvoir au fonctionnement normal d'organes comme le cerveau, le muscle cardiaque, les muscles squelettiques. Cette maladie est fréquemment associée à la *perte d'activité de l'aconitase*, une enzyme de la matrice (voir le cycle de Krebs). Cette enzyme intervient dans la formation de la ferritine à partir des molécules de fer qui ont pénétré dans la matrice.

B. Maladies liées à un dysfonctionnement mitochondrial

Les dysfonctionnements mitochondriaux provoquent une baisse de production d'énergie et de graves altérations tissulaires.

Ainsi, dans les neurones, la baisse de la production d'énergie crée une dépolarisation neuronale partielle, suivie d'une activation des récepteurs des acides aminés excitateurs, induite par l'augmentation de la concentration ambiante de glutamate.

Le dysfonctionnement mitochondrial déclenche aussi une *augmentation du calcium* intracellulaire, qui est libéré à partir des mitochondries (le réservoir le plus important de calcium) et du réticulum endoplasmique. De plus l'accroissement du calcium intracellulaire entraîne l'élévation de la production des *radicaux libres* et une augmentation de l'*oxyde d'azote* synthase.

Les *maladies neurodégénératives* comme la maladie d'*Huntington*, de *Kennedy* sont souvent liées à un dysfonctionnement mitochondrial. L'administration expérimentale prolongée, chez les primates, d'acide 3-nitropropionique provoque une dégénérescence de la région striée de l'encéphale se traduisant par des mouvements choréiformes. Or, cette substance accroît la production de radicaux libres dont la toxicité diminue la production d'énergie par la mitochondrie. Cette insuffisance de production d'énergie provoque la mort neuronale.

La *sclérose latérale amyotrophique* est liée à un déficit des réactions d'oxydation. Cette maladie, caractérisée par la mort de neurones moteurs cérébraux et spinaux, qui se traduit donc cliniquement par des paralysies, est une maladie létale. La sclérose latérale amyotrophique serait provoquée par la surexpression d'une enzyme, SOD 1 (SOD : superoxyde dismutase cuivre zinc) qui, lorsque lorsqu'elle est surexprimée, libère le calcium contenu dans la matrice mitochondriale, augmente la concentration des radicaux libres et provoque des lésions mitochondriales.

POINTS CLÉS

- La membrane externe, très perméable, contient des porines (transports passifs), des complexes de translocation, les complexes d'importation du cholestérol. La chambre externe contient des protons, des facteurs provoquant l'apoptose.
- La membrane interne dessine des crêtes internes communicantes et communiquant avec la chambre externe. Elle contient des symports métabolites/ H^+ , des antiports ATP/ADP, les quatre complexes de la chaîne respiratoire, des cardiolipines, des enzymes de la β -oxydation, des complexes d'importation des protéines, les transporteurs d'électrons et de protons et de l'ATP synthase.
- Les mitochondries jouent un rôle fondamental dans l'apoptose. Elles possèdent des facteurs apoptotiques (AIF, cytochrome c et caspases) et un facteur anti-apoptotique bcl-2.
- Les sources d'énergie nécessaires au fonctionnement des mitochondries proviennent du radical acétyl. La dégradation intramitochondriale des acides gras aboutit à la formation de radicaux acétyl, celle des glucides et des protéines à la formation de pyruvate. Le pyruvate traverse la membrane interne par un symport pyruvate/protons H^+ . Le pyruvate fournit des radicaux acétyl au cycle de Krebs, radicaux qui se combinent avec l'acide oxaloacétique pour former l'acide citrique, première étape de ce cycle. Des chaînes carbonées désaminées des acides aminés sont utilisées par le cycle de Krebs dans lequel elles pénètrent par sept points d'entrée différents.
- La β -oxydation des acides gras (qui est aussi une des fonctions des peroxyosomes) libère des radicaux acétyl qui alimentent le cycle de Krebs en se combinant avec l'acide oxaloacétique pour former l'acide citrique. L'oxydation d'un radical acétyl-CoA permet la formation de 17 molécules d'ATP.
- Le cycle de Krebs, qui se déroule complètement dans la matrice, est lié à la membrane interne par la succino-déshydrogénase. Chaque cycle libère deux molécules de dioxyde de carbone, huit protons H^+ et huit électrons. Les électrons sont cédés au FAD et au NAD mitochondrial.
- Le transport des électrons par la chaîne respiratoire libère une énergie qui est utilisée pour créer un gradient de protons. Seuls les complexes I, III et IV interviennent dans le transport et l'accumulation des protons dans l'espace intermembranaire. Le flux protonique, qui traverse la sous-unité c de l'ATPase, agit sur l'unité F_1 qui peut alors transformer l'énergie proton-motrice en énergie mécanique puis chimique, permettant ainsi la phosphorylation de l'ADP.
- Des protéines de découplage, en provoquant la fuite permanente des protons vers la matrice, interrompent la phosphorylation : le transport d'électrons produit alors de la chaleur. C'est ainsi que les mitochondries de la graisse brune interviennent dans la thermogénèse.
- La matrice mitochondriale renferme une machinerie de synthèse des protéines (ADN, ARNm, ARNt et ARNr).
- Les mitochondries se divisent et croissent par apport de 99 % de leurs protéines par le cytoplasme. Leur « machinerie » de synthèse (ADNmt, ARN, mitoribosomes) ne leur permet de synthétiser qu'une douzaine de protéines. Le génotype mitochondrial joue un rôle dans l'activité respiratoire de la cellule. Les mitochondries importent des protéines par deux voies différentes : la voie MSF et la voie cHsp70.
- Les mitochondries régulent des fonctions cellulaires en contrôlant le taux de calcium cytosolique. La mitochondrie est le principal réservoir de calcium. Le calcium est transporté par des canaux calciques, des échangeurs Na^+/Ca^{2+} et des PTP. La libération massive de calcium par les PTP peut déclencher l'apoptose.
- Les mitochondries sont capables de concentrer des substances aussi diverses que des colorants, des protéines, des lipides, de la ferritine, etc.
- Les maladies mitochondriales commencent seulement à être connues : l'ataxie de Friedreich (produite par une altération de la chaîne respiratoire par des radicaux libres), les maladies de Huntington, de Kennedy et l'ataxie spino-cérébelleuse type I et la sclérose latérale amyotrophique.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Les mitochondries

- ☐ A. Sont des organites visibles en microscopie à contraste de phase.
- ☐ B. Sont au nombre de 100 par cellule.
- ☐ C. Sont capables de se déplacer dans les cellules.
- ☐ D. Ont toujours une forme de bâtonnet.
- ☐ E. Se divisent pendant la mitose.

2. La membrane externe contient

- ☐ A. Une acyl-CoA synthétase.
- ☐ B. Un transporteur de cholestérol.
- ☐ C. Des monoamines oxydases.
- ☐ D. Du cytochrome P450.
- ☐ E. Une protéine commune avec la membrane externe du noyau.

3. Les porines

- ☐ A. Sont synthétisées par le REG.
- ☐ B. Permettent un tri sélectif des molécules de masse inférieure à 10 kDa.
- ☐ C. Sont responsables du passage de l'ATP.
- ☐ D. Se lient à des MAP.
- ☐ E. Sont constituées de trois sous-unités en feuillet β .

4. La chambre externe

- ☐ A. A un pH acide.
- ☐ B. Contient des procaspases.
- ☐ C. Contient des complexes protéiques de grande taille.
- ☐ D. Contient du cytochrome C.
- ☐ E. Ne communique pas avec la lumière des crêtes.

5. La membrane interne

- ☐ A. Contient plus 75 % de protéines.
- ☐ B. Ne contient que des transporteurs.
- ☐ C. A des caractères biochimiques comparables aux membranes plasmiques de certaines bactéries.
- ☐ D. Est riche en cholestérol.
- ☐ E. Possède un phospholipide particulier : le cardiolipide.

6. La membrane interne contient

- ☐ A. Des antiports ATP/ADP.
- ☐ B. Des symports métabolites/protons.
- ☐ C. Des complexes d'exportation Tom.
- ☐ D. Des transporteurs d'électrons.
- ☐ E. Des ATPases.

7. Les crêtes mitochondriales

- ☐ A. Leur composition biochimique est différente de celle de la membrane interne.
- ☐ B. Leur nombre varie selon l'activité de la cellule.
- ☐ C. Leur forme varie selon l'activité de la cellule.
- ☐ D. Provoquent une augmentation de la surface membranaire d'un facteur cinq.
- ☐ E. Ont un aspect granuleux dû à la présence de nombreux mitoribosomes associés.

8. La matrice mitochondriale contient

- ☐ A. De 1 à 5 molécules d'ADNmt.
- ☐ B. Des ARNt d'origine cytosolique.
- ☐ C. Des réserves de Ca^{++} .
- ☐ D. Des réserves de glucide.
- ☐ E. De la ferritine.

9. L'ADN mitochondrial

- ☐ A. Est circulaire.
- ☐ B. Code pour 22 protéines.
- ☐ C. Ne possède pas d'intron.
- ☐ D. Code pour la totalité des sous-unités de la cytochrome oxydase.
- ☐ E. Les 2 brins n'ont pas la même teneur en G et C.

10. Les mitoribosomes

- ☐ A. Fonctionnent selon un code génétique différent de celui du cytoplasme.
- ☐ B. Leurs constituants protéiques sont d'origine cytoplasmique.
- ☐ C. La petite sous-unité est identique à celle des ribosomes du cytosol.
- ☐ D. Fonctionnent uniquement pendant les phases G1 et S du cycle.
- ☐ E. Sont sensibles aux mêmes antibiotiques que ceux des bactéries.

11. Importation de protéines

- ☐ A. Les protéines importées sont aux nombres d'une centaine.
- ☐ B. Les protéines de la matrice mitochondriale ont une séquence d'adressage NH_2 terminale.
- ☐ C. Elles conservent leur séquence d'adressage.
- ☐ D. Les protéines mitochondriales n'acquièrent leur forme définitive que dans la matrice.
- ☐ E. Les protéines passent dans les canaux transmembranaires en se dépliant.

12. Importation des protéines

- ☐ A. Les protéines de masse moléculaire inférieure à 10 kDa passent par les porines.
- ☐ B. Les systèmes de transporteurs sont identiques pour les deux membranes de la mitochondrie.
- ☐ C. Les protéines destinées à la chambre externe ne passent pas dans la matrice.
- ☐ D. Les protéines destinées à la chambre ont deux séquences signal spécifiques.
- ☐ E. Les chaperonines interviennent dans le repliement définitif des protéines.

13. Les mitochondries et les lipides

- ☐ A. Les phospholipides membranaires sont synthétisés dans le REL.
- ☐ B. Les acides gras traversent librement dans les membranes.
- ☐ C. Les acides gras sous forme d'acyl-CoA subissent la β -oxydation.
- ☐ D. À chaque tour de l'hélice de Lypen il y a perte de trois carbones.
- ☐ E. À chaque tour de l'hélice de Lypen il y a formation de deux ATP.

14. Le cycle de Krebs

- ☐ A. Toutes les enzymes sont libres dans la matrice.
- ☐ B. Le bilan d'un tour de cycle est de 2 CO_2 , 6 H^+ et 6 e^- .
- ☐ C. Le bilan d'un tour de cycle est de 2 CO_2 , 8 H^+ et 8 e^- .
- ☐ D. Le bilan de la dégradation d'un glucose est de 36 ATP.
- ☐ E. Le cycle de Krebs ne concerne que la dégradation finale des lipides et des glucides.

15. Le devenir des électrons

- ☐ A. Sont recyclés grâce au NAD^+ et au FAD^+ .
- ☐ B. Il existe quatre complexes membranaires capables de transporter les électrons.
- ☐ C. Tous ces complexes sont couplés à des transports de protons au travers de la membrane.
- ☐ D. Ce transport de protons se fait de la chambre externe vers la matrice.
- ☐ E. Ce transport d'électrons produit un dégagement de chaleur.

16. L'ATP synthétase

- ☐ A. Est constituée de deux complexes F_0 et F_1 .
- ☐ B. F_0 est transmembranaire.
- ☐ C. Seule la sous-unité α de F_1 est capable de fixer un P_i sur de l'ADP.
- ☐ D. Seule la sous-unité α est phosphorylée.
- ☐ E. Chez l'Homme l'ATP synthétase ne peut fonctionner que dans un seul sens.

17. Les autres fonctions des mitochondries

- ☐ A. Sont capables d'initier la synthèse d'acides aminés non essentiels.
- ☐ B. Sont capables d'initier la synthèse d'acides aminés essentiels.
- ☐ C. Sont capables de faire la synthèse complète de l'asparagine.
- ☐ D. Sont capables d'initier la synthèse d'hormones stéroïdes.
- ☐ E. Sont capables d'initier la synthèse de sels biliaires.

Pour les corrections, se reporter à la page 585

Le système endomembranaire

- I. **Choix et conditionnement des cargos**
- II. **Les vésicules à manteau**
- III. **Identification des protéines à transporter**
- IV. **Les protéines de ciblage et d'ancrage**
- V. **Les vésicules COP II**
- VI. **Les vésicules COP I**
- VII. **Les vésicules à clathrine**
- VIII. **Les voies suivies par les vésicules de transport**

Le système endomembranaire regroupe des *compartiments intracellulaires* d'une cellule eucaryote limités chacun par une seule membrane, c'est-à-dire les *endosomes*, le *réticulum endoplasmique*, l'*appareil de Golgi*, les *lysosomes* (fig. 14.1). Les mitochondries, les chloroplastes des végétaux et le noyau qui possèdent une double membrane ne font pas partie du système endomembranaire ainsi que les peroxysomes et les enclaves. Chacun de ces compartiments est spécialisé. Ces compartiments n'existent pas dans les cellules procaryotes. Ils permettent à la cellule de posséder des secteurs spécialisés qui peuvent, jusqu'à une certaine limite, être indépendants l'un de l'autre comme l'endocytose, l'exocytose, la synthèse protéique, la réplication de l'ADN, etc. Cette division morphologique et fonctionnelle est obligatoirement accompagnée d'un système complexe de transport et d'identification des molécules transportées et des compartiments, sinon la vie de la cellule eucaryote serait impossible.

Les techniques de marquage, par des isotopes radioactifs en MET ou par des composés fluorescents en microscopie confocale, permettent de comprendre que le système endomembranaire est un système particulièrement dynamique : il assure la production de molécules (voir chapitre 16, p. 446), leur transport vers une destination spécifique, leur stockage, la sécrétion de molécules d'origine biologique, la dégradation de substances toxiques (lysosomes).

Le transport est assuré par des vésicules qui proviennent du bourgeonnement de la membrane d'un compartiment donneur, et qui sont recouvertes d'un manteau, constitué en fonction de la vésicule soit par COP I, COP II (*Coat Protein* ; protéine du manteau), soit par la clathrine/AP (AP : *Adapting Protein* ; protéine adaptatrice). Elles assurent le transport de molécules triées vers un compartiment receveur. Les

molécules intervenant dans ce transport sont *recyclées* par le compartiment receveur qui les renvoie au compartiment donneur.

Les mécanismes de formation des vésicules, de reconnaissance des molécules, de transport, de reconnaissance du compartiment receveur et de fusion dépendent d'une « machinerie de transport » complexe, qui fonctionne d'une manière presque identique quels que soient les compartiments concernés : seule la nature des molécules intervenant dans cette machinerie diffère.

I. Choix et conditionnement des cargos

Une protéine, synthétisée par le REG, est soumise à un transport vésiculotubulaire : elle suit un trajet passant d'un compartiment du système endomembranaire à un autre en empruntant des vésicules de transport, afin d'atteindre soit les régions où elle est nécessaire voire indispensable au fonctionnement cellulaire, soit la membrane plasmique où elle est excrétée. La protéine doit « voyager » dans les meilleures conditions afin de conserver son organisation et sa conformation spatiale. De nombreux mécanismes interviennent :

- la *sélection de la protéine* à transporter : une *séquence d'adressage* (ou signal de tri) à l'une des extrémités de la protéine lui permet d'atteindre un compartiment précis du système endomembranaire en se faisant reconnaître par la zone membranaire qui formera la vésicule assurant spécifiquement son transport ;
- la *vésiculation* : un mécanisme complexe transforme la zone membranaire d'identification de la protéine en une vésicule qui transporte la protéine reconnue ;
- le *ciblage des vésicules* de transport : la vésicule de transport doit évidemment avoir la même destination que la protéine qu'elle transporte ;
- la *fusion* de la vésicule de transport avec le compartiment receveur qui délivre la protéine soit à un compartiment situé sur le trajet, où elle subira d'éventuelles modifications, soit au compartiment destinataire, soit à la membrane plasmique. Le mécanisme de la fusion est mal connu.

II. Les vésicules à manteau

A. Définition

Les vésicules à manteau sont des formations généralement sphériques d'un diamètre de 60 à 80 nm, dont la face cytosolique de la membrane est recouverte par des molécules qui sont polymérisées pendant le bourgeonnement membranaire : elles perdent très rapidement ce manteau dès qu'elles sont libérées. Ce transport implique la sélection du chargement, la formation de la vésicule, le ciblage et la fusion de la vésicule au compartiment receveur.

B. Les trois types de vésicules à manteau

Il existe trois types de vésicules à manteau constituées par polymérisation de molécules sur la face externe de la membrane qui interviennent dans le transport des protéines (fig. 14.1) :

- les vésicules *COP II* dont les cargos (protéines transportées) *proviennent du REG* et sont dirigés vers l'appareil de Golgi ;
- les vésicules *COP I* qui transportent les cargos de la face cis (la plus proche du REG) de l'appareil de Golgi au REG et de saccules en saccules dans l'appareil de Golgi, dans le sens *antérograde* (en direction de la membrane plasmique) et dans le sens *rétrograde* ;
- les vésicules à *clathrine* qui transportent les cargos, du réseau trans de l'appareil de Golgi (TGN : *Trans Golgi Network* ; réseau golgien trans) vers la membrane des endosomes tardifs ou vers la membrane plasmique et de la membrane plasmique vers le TGN (tableau 14.I et chapitre 15, « Les endosomes », p. 431).

■ Les vésicules à cavéoline, en raison de la disposition de la cavéoline qui la rend indissociable de la membrane, ne peuvent être classées parmi les vésicules à manteau ni parmi les vésicules lisses.

Tableau 14.I. Les trois types de vésicules à manteau.

Type de vésicule	Protéines du manteau	GTPase associée	Étape du transport
COP II	Complexes Sec23/Sec24 et Sec13/Sec31, Sec16	Sar1	REG vers saccule cis du Golgi
COP I	Coatomères contenant 7 sous-unités différentes	ARF	Saccule cis du Golgi vers REG et de saccules en saccules
Clathrine/ Adaptateur	Clathrine/AP1	ARF	Saccule trans-golgien vers endosome
	Clathrine/GGA	ARF	Saccule trans-golgien vers endosome
	Clathrine/AP2	ARF	Membrane plasmique vers endosome
	Complexes AP3	ARF	Golgi vers lysosome

GGA : Golgi-Localized, Gamma Ear-Containing, ARF Protein ; protéine faisant les ARF contenant l'oreille gamma et située dans l'appareil de Golgi.

■ Qu'il s'agisse de la sécrétion continue ou de la sécrétion contrôlée, nous connaissons assez mal quel type de protéine constitue le revêtement des vésicules ; cependant, sur ce schéma, les notions classiquement enseignées sont conservées (vésicules à clathrine = sécrétion contrôlée et vésicules COP I = sécrétion discontinue).

III. Identification des protéines à transporter

Les molécules à transporter d'un point à l'autre de la cellule possèdent des *signaux d'adressage* ou *séquence signal*, qui les orientent vers la membrane des vésicules de transport spécifique en cours de formation. La membrane du *compartiment donneur* qui bourgeonne pour former une vésicule doit reconnaître les signaux (d'adressage ou de recrutement) de la molécule à transporter. Les protéines du manteau qui recouvre la face cytosolique de la membrane vésiculaires reconnaissent ces signaux (tableau 14.II).

IV. Les protéines de ciblage et d'ancrage

Les protéines *Rab* sont responsables du recrutement des protéines de ciblage, les *SNARE*.

Hidden page

Hidden page

Tableau 14.III. Localisation des protéines Rab (d'après Roberts)

Type	Localisation
Rab1	RE et appareil de Golgi
Rab2	Réseau cis-golgien
Rab3	Vésicules synaptiques, granules sécrétoires, endosomes précoces
Rab4	Membrane plasmique (vésicules de clathrine)
Rab5	Sacculs golgiens médians et trans, endosomes tardifs
Rab6	Vésicules sécrétoires basolatérales
Rab7	Endosomes tardifs, réseau trans-golgien
Rab8	Vésicules sécrétoires (basolatérales)
Rab9	Endosomes tardifs, réseau trans-golgien

3. Activation

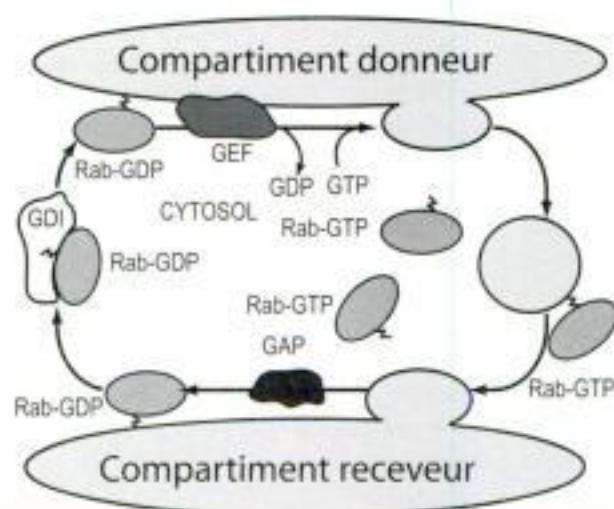
Les protéines Rab interviennent à la manière de *commutateurs* (elles existent sous deux formes : une forme inactive Rab-GDP, une forme active Rab-GTP) dans des interactions protéiques afin de former des complexes de ciblage et d'ancrage (fig. 14.2).

La membrane de la future vésicule contient *GEF*. Dans le cytoplasme, les protéines Rab-GDP sont associées au GDI (*Guanine Nucleotide Dissociation Inhibitor* ; inhibiteur de la dissociation des nucléotides guanyliques). Rab-GDP, au voisinage de la membrane, est activé par GEF : le Rab-GDP se transforme en Rab-GTP (effet de commutation) et recrute, *au cours de la formation de la vésicule*, des molécules, nécessaires ultérieurement à l'arrimage de la vésicule et la fusion de la membrane vésiculaire avec son compartiment de destination. Après l'ancrage, une GAP inactive Rab-GTP qui regagne le cytoplasme sous la forme de Rab-GDP : Rab-GDP est recyclé dans le cytoplasme par GDI (fig. 14.2).

Fig. 14.2

Le cycle de la protéine Rab.

Pendant la formation de la vésicule, Rab est libéré de GDI et se fixe sur la membrane du compartiment donneur. Rab-GDP est activé par la protéine transmembranaire GEF située dans la membrane du compartiment donneur. Rab activée intervient dans la libération de la vésicule. Fixée à la membrane de la vésicule, elle gagne la membrane du compartiment receveur où elle est inactivée par GAP. Rab-GDP en se liant à GDI est transportée dans le cytosol en direction de la membrane du compartiment donneur et le cycle recommence.



4. Fonctions des Rab

Elles interviennent dans la libération des vésicules.

Elles facilitent la vitesse de l'arrimage de la vésicule à la membrane du compartiment receveur et régulent la correspondance entre les SNARE vésiculaires et les SNARE de la membrane golgienne.

Les protéines Rab activées s'unissent à d'autres protéines dénommées « effecteurs Rab » : les effecteurs Rab interviennent dans la direction des vésicules sur un site spécifique et l'arrimage de la vésicule à ce site. Les protéines Rab participent aux mécanismes de fusion membranaire en recrutant les protéines SNARE et en *contrôlant l'appariement des SNARE* (*vesicle-soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*) de la membrane vésiculaire avec les SNARE de la membrane cible.

B. Protéines SNARE

Les protéines SNARE qui interviennent dans la dernière étape de l'arrimage sont déjà *présentes* dans la membrane des vésicules *en cours de formation* et dans celle du compartiment de destination.

1. Classification

Les SNARE sont des *molécules intramembranaires* qui, lors de leur découverte, furent classées en :

- *v-SNARE* localisées dans la membrane du compartiment donneur (v de *vésiculaire* ; vésiculaire) ;
- *t-SNARE* localisées dans la membrane de compartiment accepteur (t de *target* ; cible).

Cette terminologie « historique » est parfois encore utilisée pour décrire les interactions entre les SNARE de la vésicule et les SNARE du compartiment cible : v-SNARE et t-SNARE contrôlent l'amarrage de la vésicule. Par exemple, v-SNARE située dans la membrane d'une vésicule du RE ne peut pas s'associer avec une t-SNARE d'une membrane lysosomale, mais uniquement dans un t-SNARE du CGN.

Il apparaît que cette classification est dépassée. En effet, v-SNARE et t-SNARE sont simultanément présentes dans la membrane des deux compartiments. De plus, les biologistes ont découvert des protéines SNARE riches en résidus arginine (*R-SNARE*) et d'autres en résidus glutamine (*Q-SNARE*). Elles possèdent une tresse de quatre hélices qui dépend de l'interaction entre des glutamines (appartenant à trois hélices) et une arginine située sur la quatrième hélice. Cette tresse joue un rôle essentiel au moment de l'arrimage de la vésicule de transport au compartiment récepteur. La membrane, au cours de la *vésiculisation*, recrute ces *deux types de SNARE*.

Une classification des SNARE, en Q-SNARE et en R-SNARE semble donc beaucoup plus logique.

2. Appariement cis-SNARE

R-SNARE et Q-SNARE, recrutés pendant la vésiculisation, forment un complexe spécifique dénommé cis-SNARE en enroulant chacun de leurs domaines superspiralisés l'un avec l'autre. Les cis-SNARE sont spécifiques du compartiment ou de l'organe qui les porte. La vésicule possède une paire de cis-SNARE.

Hidden page

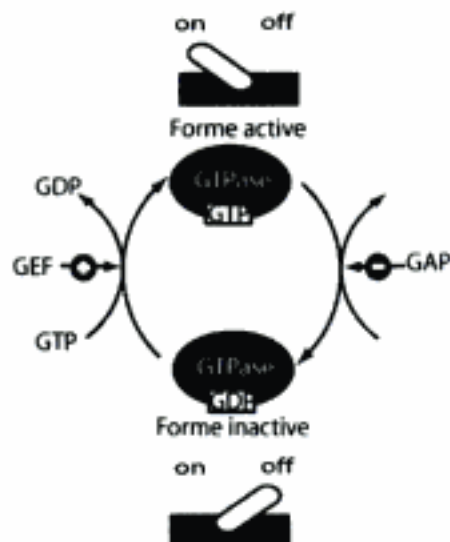


Fig. 14.3

Le cycle d'activation et d'inactivation de Sar1.

Les Sar1-GDP inactives sont activées par GEF : la structure tridimensionnelle de la protéine Sar1 est modifiée par la fixation de GTP : elle expose un groupement lipidique qui lui permettrait de s'ancrer sur la membrane (nombre de biologistes pensent que même inactivée, Rab est ancrée sur la membrane). Elle est inactivée par GAP. Ce schéma s'applique également aux protéines Rab qui fonctionnent de la même manière.

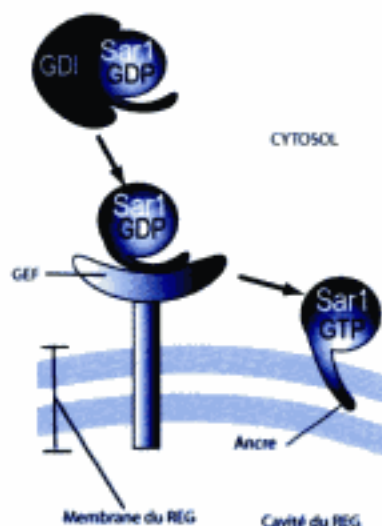


Fig. 14.4

Recrutement de Sar1 dans la membrane du REG en cours de vésiculation.

Sar1-GDP est associé dans le cytosol à la protéine GDI. Une protéine d'échange l'active. L'activation modifie la conformation de Sar1 : son extrémité N-terminale hydrophobe exposée s'insère dans la membrane du REG.

Redessiné d'après Lodish.

GEF (*Guanine Exchange Factor* ; facteur d'échange des nucléotides guanyliques) désignée aussi par le sigle Sec12, activée par des ligands non connus actuellement, libère GDP de Sar1 et lie Sar1 à GTP. Sar1 possède un *domaine N-terminal hydrophobe* qui peut donc s'insérer dans la membrane plasmique. Le remplacement de GDP par GTP modifie la conformation de Sar1 de telle sorte que le *domaine N-terminal hydrophobe* est exposée et peut alors se fixer dans la membrane.

b. Complexes Sec23/Sec24 et Sec13/Sec31

Sar1-GTP lié à la membrane et activé recrute :

- au cours d'une première étape, les complexes Sec23/Sec24 dont la localisation contre la membrane permet la stabilisation non seulement de Sar1, le recrutement dans la vésicule en cours de formation des protéines à transporter (protéines cargos : *cargo* signifie *cargaison* en anglais) ; l'ensemble de ces molécules s'organise et forme un complexe de prébourgeonnement (fig. 14.5) ;

Hidden page

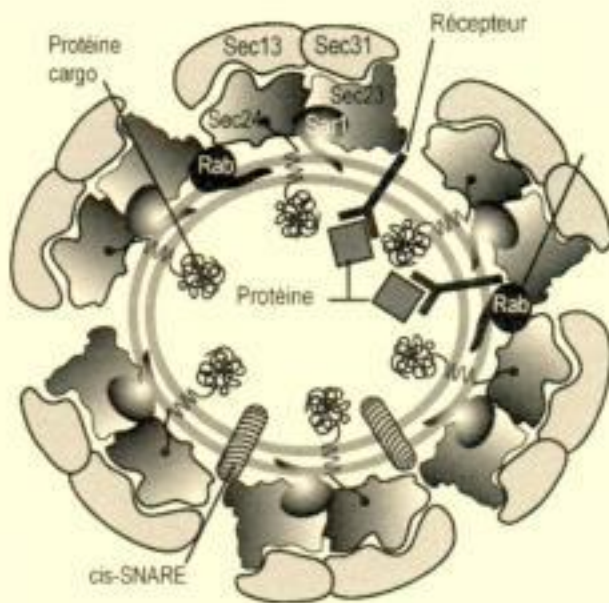


Fig. 14.6

Structure d'une vésicule COP II.

Les protéines Rab, Sar1, SNARE insérées dans la membrane de la vésicule sont inaccessibles : elles sont recouvertes par le manteau constitué par Sec24/23 et Sec13/31.

Redessiné d'après Lodish.

tour l'activité GAP en déphosphorylant Sec13/Sec31 : cette hydrolyse assistée par une des sous-unités du manteau provoque le déshabillage par *dépolymérisation des protéines du manteau* (fig. 14.7) et la *libération de Sar1 qui se détache de la vésicule pour être recyclée en direction du compartiment donneur*.

3. Transport de la vésicule

Le transport de la vésicule est assuré par la *dynéine*, une protéine motrice qui se déplace le long des microtubules en direction de leur extrémité négative. Les microtubules convergent vers le centre cellulaire (où sont situées les extrémités négatives), depuis les citernes du RE, en passant par l'appareil de Golgi (fig. 17.6).

4. Recrutement de la giantine et de la protéine p115

Rab1-GTP recrute un long complexe spiralisé, constitué par deux molécules (giantine et p115) qui se lient spécifiquement aux vésicules COP II : ce recrutement *définit l'identité des vésicules COP II*.

En même temps ou presque, le CGN, compartiment cible, recrute GM130/GRASP65 qui interviendra au cours de la première phase d'arrimage de la vésicule, car p115 et GM130/GRASP65 sont des molécules capables de se « reconnaître ».

C. « Accostage » de la vésicule

Le compartiment cible (le TGN) met en place une paire de cis-SNARE qui lui permettra d'identifier la vésicule.

La liaison entre la vésicule et le CGN se déroule vraisemblablement en deux phases : une *phase d'amarrage (tethering)* et une *phase d'arrimage (docking)*.

1. Arrimage

Dans un premier temps giantine/P115 et GM130/GRASP65 (*Golgi Rassemblement Stacking Protein* ; protéine de l'empilement de l'appareil de

Hidden page

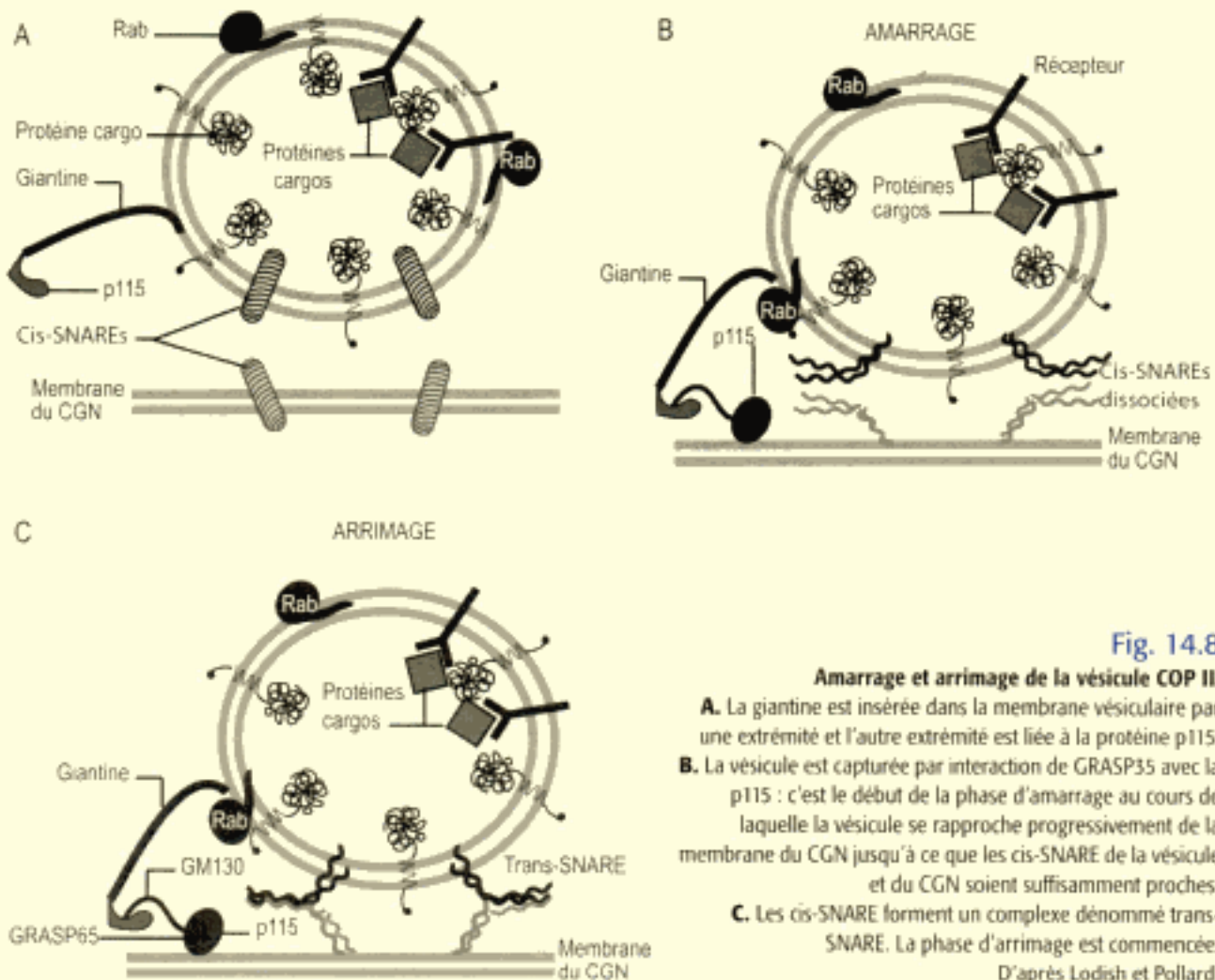


Fig. 14.8

Amarrage et arrimage de la vésicule COP II.

- A.** La giantine est insérée dans la membrane vésiculaire par une extrémité et l'autre extrémité est liée à la protéine p115.
- B.** La vésicule est capturée par interaction de GRASP35 avec la p115 : c'est le début de la phase d'amarrage au cours de laquelle la vésicule se rapproche progressivement de la membrane du CGN jusqu'à ce que les cis-SNARE de la vésicule et du CGN soient suffisamment proches.
- C.** Les cis-SNARE forment un complexe dénommé trans-SNARE. La phase d'arrimage est commencée.
- D'après Lodish et Pollard.

VI. Les vésicules COP I

■ À partir du TGN, le transport est assuré par des vésicules à clathrine (sécrétion contrôlée) en direction de la membrane plasmique, et de la membrane plasmique au TGN. Le transport est également assuré par des vésicules à manteau du TGN à la membrane plasmique (sécrétion constitutive). Ces vésicules ressemblent aux vésicules COP, cependant la nature du revêtement n'est pas encore connue.

Les vésicules COP I assument :

- le transport du CGN au REG afin de recycler les récepteurs des protéines cargos, les cis-SNARE utilisés par les vésicules COP II (fig. 14.11) et les protéines résidentes du REG en direction de leur compartiment. Elles sont indispensables au recyclage des molécules de la « machinerie de transport » ;
- le transport rétrograde, dans l'appareil de Golgi, du TGN au CGN ;
- le transport antérograde, dans l'appareil de Golgi, du CGN au TGN.

A. Composition des revêtements COP I

Le revêtement COP I situé sur le versant cytoplasmique des compartiments du CGN est assemblé à partir d'un complexe protéique hétéro-oligomérique (coatomère) préformé dans le cytoplasme. Le manteau des vésicules COP I est constitué par six protéines cytosoliques différentes (de 25 à 100 kDa).

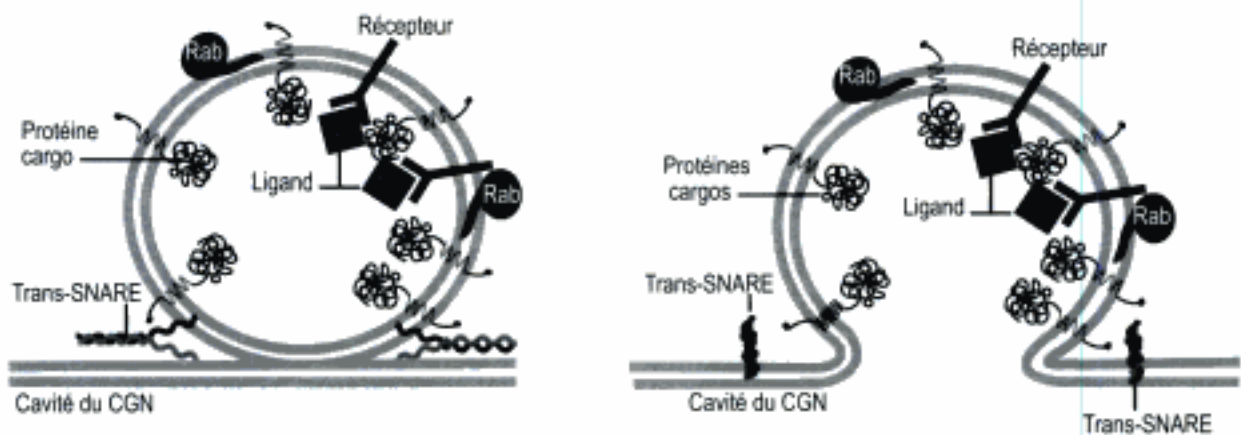


Fig. 14.9

Fusion de la vésicule de transport avec la membrane du CGN.
D'après Lodish et Pollard.

NSF

- Les biologistes ont pensé que NSF, en association avec SNAP, intervenait dans la fusion des membranes de la vésicule et du TGN. En réalité, il a été démontré récemment que NSF et SNAP sont nécessaires à la régénération des SNARE libres.
- NSF intervient à la fin du cycle de fusion. Les SNARE, après avoir servi d'intermédiaires de fusion, sont détachés l'un de l'autre par NSF qui hydrolyse l'ATP.

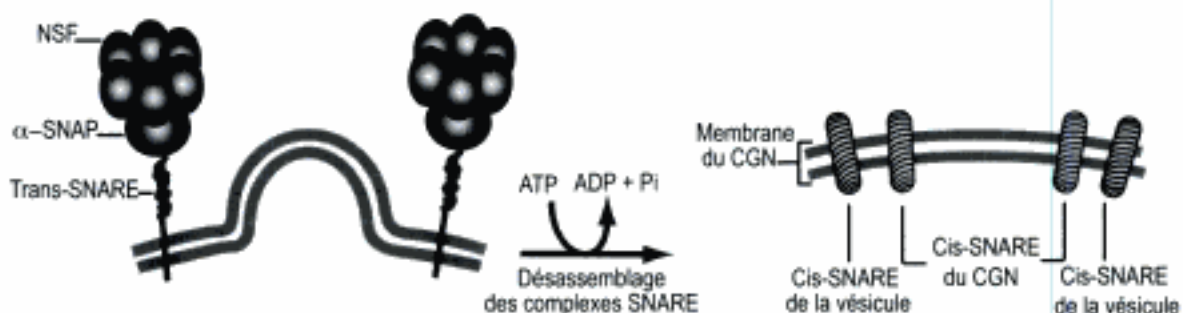


Fig. 14.10

Régénération des cis-SNARE.

B. Protéines Arf

Chez l'Homme, il existe cinq protéines Arf ; elles contrôlent la formation des vésicules COP I dans les différents compartiments concernés par l'exocytose et l'endocytose. Pour les vésicules COP I qui sont formées par vésiculation du CGN et dont le compartiment receveur est le REG, l'assemblage des molécules COP I dépend de *Arf1* (*ADP ribosylation factor* ; facteur de ribosylation de l'ADP), une petite GTPase soluble, qui contrôle le bourgeonnement vésiculaire de la face cis du CGN.

Les protéines Arf possèdent un groupement myristyle qui permet la fixation des GTPases Arf à la bicouche membranaire : ce groupement, fixé par liaison covalente à l'extrémité N-terminale, est indispensable à l'activité fonctionnelle.

GEF est situé dans la membrane du CGN.

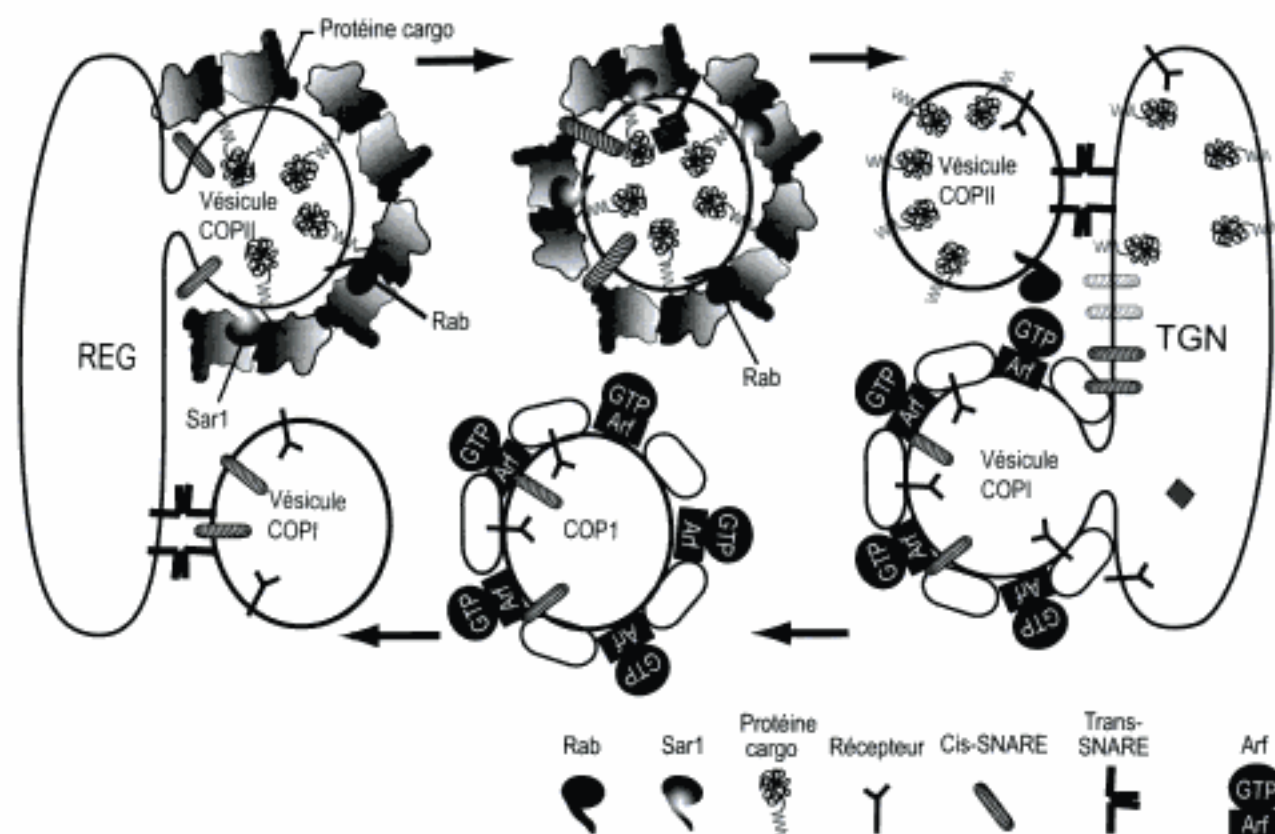


Fig. 14.11

Recyclage par les vésicules COP I des molécules de la machinerie de transport, d'amarrage et d'arrimage de la vésicule COP II (Sec23et Sec31 ne sont pas représentées).

C. Fonctions de protéines Arf1

Arf1-GTP phosphorylé régule :

- le recrutement, dans les vésicules COP I, des facteurs de recyclage du chargement, des facteurs d'ancrage et des protéines SNARE ;
- l'activité fonctionnelle de la phospholipase D qui modifie la composition lipidique de l'appareil de Golgi.

La bréfeldine A inactive le complexe GEF/Arf1 ; Arf1 n'est pas activée. Le revêtement COP I ne peut se construire, ce qui provoque une affaissement total du Golgi vers le RE.

D. Dénudation des vésicules COP I

La dissociation du revêtement dépend de GAP spécifiques de Arf1 qui déphosphoryle cette molécule. La molécule Arf1 est libérée dans le cytosol en même temps que les coatomères : ces molécules seront utilisées lors du transport suivant (fig. 14.12).

E. Signaux de recyclage

Le recyclage des molécules membranaires de la vésicule COP II est réalisé par les vésicules COP I qui se forment à partir de la membrane du CGN (fig. 14.11) ; ces molécules transmembranaires portent un signal constitué par une séquence Lys-Lys-X-X-COOH (KKXX), où X est un autre acide

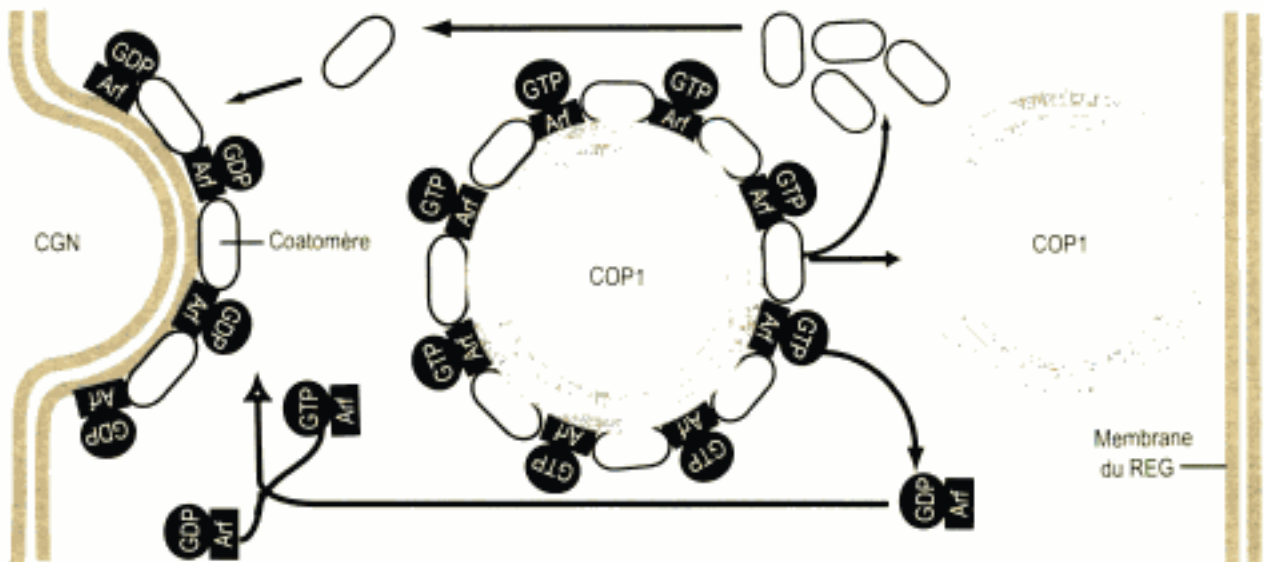


Fig. 14.12

Arf et vésicule à COP I.

Arf active (Arf-GTP) recrute les coatomères, contrôle la formation de la vésicule. La déphosphorylation de Arf par GAP provoque la dissociation du revêtement et la libération de Arf. Arf et les coatomères sont réutilisés pour former une nouvelle vésicule (les SNARE ne sont pas représentés).

aminé quelconque. Cette séquence est située en position C-terminale cytosolique. KKXX interagit avec des sous-unités du complexe COP I et récupère spécifiquement ces protéines. L'activation de la protéine Arf1-GTP rend ce signal accessible.

Les vésicules COP I chargent les protéines résidentes du RE (la protéine disulfure isomérase PDI et Bip) qui sont transportées par les vésicules COP II dans le CGN (voir chapitre 16, p. 446).

F. Transports dans l'appareil de Golgi

Les saccules golgiens sont entourés par des vésicules COP I qui assurent le transport de saccule en saccule depuis le CGN jusqu'au TGN.

Les agrégats tubulovésiculaires

► L'explication du transport des protéines par des vésicules et uniquement par des vésicules a le mérite d'être simple et didactique : mais tout ce qui est simple n'est pas l'expression de la vérité. Les vésicules COP II, après avoir perdu leur manteau, fusionnent les unes avec les autres pour constituer des agrégats tubulovésiculaires (fig. 14.13). Ces agrégats forment des compartiments séparés du RE. Ils se déplacent rapidement le long des microtubules en direction du CGN : la dynéine intervient dans ce transport. Ces agrégats tubulovésiculaires forment à leur tour des vésicules : elles ne possèdent pas de manteau de COP II comme on pourrait le penser mais un manteau de COP I. Ces vésicules COP I recyclent les composants de la machinerie de transport en direction du RE. Les agrégats tubulovésiculaires fusionnent avec le TGN qui intervient également dans le recyclage. Ces agrégats constituent un compartiment intermédiaire entre le REG et l'appareil de Golgi, qui est désigné par le sigle ERGIC (*Endoplasmic Reticulum-Golgi Compartment*).

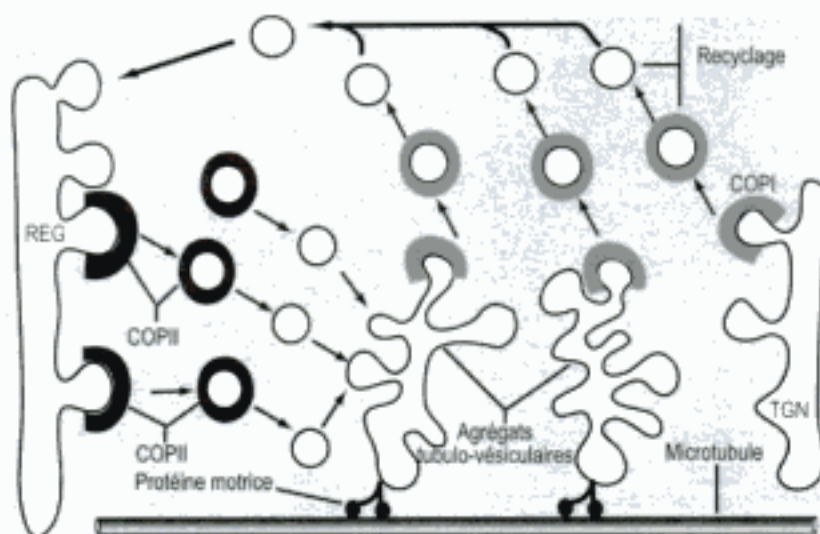


Fig. 14.13

Les agrégats tubulovésiculaires
(voir explication dans l'encadré).

VII. Les vésicules à clathrine

A. Définition

Les vésicules à clathrine sont des vésicules recouvertes par un revêtement constitué par un complexe clathrine/AP qui forme le manteau des vésicules formées par le TGN, vésicules destinées soit à l'exocytose, soit aux lysosomes *via* les endosomes tardifs.

B. Molécules du manteau

1. Clathrine

La structure et les fonctions de cette molécule sont étudiées dans le chapitre 5, p. 99.

2. Protéines d'adaptation ou adaptines

Ces protéines, appartiennent à une famille qui regroupe au moins quatre types d'AP : AP1, 2, 3, et 4. Elles sont constituées par plusieurs sous-unités α , β , γ , etc. Les protéines AP diffèrent en fonction de l'origine de la vésicule et de sa destination : AP1 (vésicules du TGN \rightarrow endosome) ; AP2 (membrane plasmique \rightarrow endosome) ; AP3 (membrane plasmique \rightarrow endosome).

Chaque type d'adaptine est spécifique d'un groupe de récepteurs. L'association de deux molécules d'adaptine constitue un adaptateur. Les adaptateurs sont situés entre la face cytosolique de la vésicule et les molécules de clathrine. Les domaines des adaptateurs, en contact avec la face cytosolique de la membrane du compartiment donneur, par exemple le TGN, identifient l'extrémité cytosolique des récepteurs des protéines cargos (fig. 14.14).

Les récepteurs portent en effet des motifs de tri qui interagissent avec les adaptines. La membrane du TGN contient des récepteurs du M6P (mannose-6-phosphate : voir chapitre 17, p. 484) qui portent une séquence YSKV (tyrosine-sérine-lysine-valine) située dans le domaine cytosolique. Des études récentes ont montré que des protéines membranaires conte-

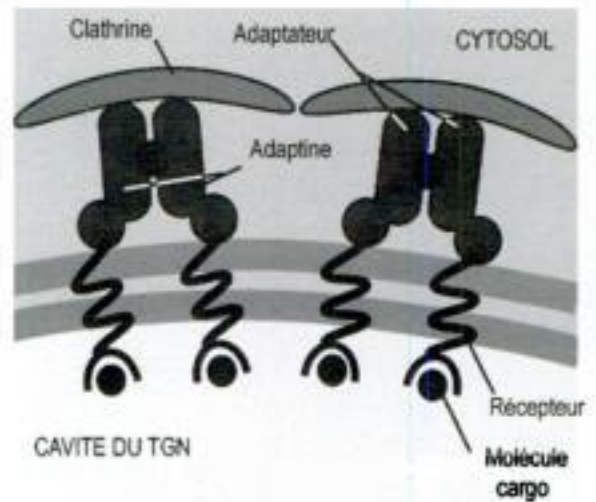


Fig. 14.14

Les adaptateurs.

Les adaptateurs sont associés en dimère. Ils stabilisent les molécules de clathrine et reconnaissent les récepteurs des protéines cargos. Arf, qui recrute les protéines du manteau, ne fait pas partie du revêtement contrairement à ce qui se produit pour les vésicules COP I.

nant la séquence Tyr-XX-Φ), où X est un acide aminé quelconque et Φ un acide aminé hydrophobe volumineux, sont recrutées dans des bourgeonnements vésiculaires clathrine/AP1 du réseau trans de l'appareil de Golgi. Ainsi, l'adaptine capture les récepteurs déjà liés ou qui se lieront aux protéines cargos.

3. Formation des vésicules à clathrine

a. Recrutement des protéines du manteau

Les protéines AP sont toutes recrutées suivant un mécanisme identique. Une GTPase Arf activée (Arf-GTP) recrute et active les molécules d'adaptine de la même manière que sont activés les coatomères qui forment le revêtement des vésicules COP I. Mais, contrairement à ce qui se produit dans les vésicules COP I, Arf n'est pas intégrée dans le revêtement de clathrine.

b. Vésiculisation

La vésiculisation nécessite l'application de forces sur la membrane : l'assemblage progressif des molécules d'adaptine sur la membrane puis des triskélions développe des forces latérales et probablement convergentes qui entraînent une courbure progressive de la membrane. Pendant l'assemblage du manteau, des molécules de dynamine, une GTPase, s'accumulent autour de la portion rétrécie (ou col) de la vésicule.

c. Libération de la vésicule à clathrine

Le détachement de la vésicule se fait comme pour les autres types de vésicules, par pincement (pour les vésicules COP I et II, le mécanisme de ce pincement n'est pas encore élucidé). Pendant les dernières étapes de la formation de la vésicule, la dynamine se polymérise autour du col. Elle hydrolyse ensuite GTP. L'énergie libérée est nécessaire à « la contraction » de la dynamine autour du col de la vésicule jusqu'à la fermeture complète. L'incubation d'extraits cellulaires avec un dérivé non hydrolysable de GTP démontre l'intervention de la dynamine dans la fermeture des vésicules pendant l'endocytose. L'absence d'hydrolyse provoque l'accumulation de bourgeons vésiculaires autour d'un très long col, entouré de dynamine, qui ne se ferme pas.

Hidden page

constitue le revêtement des vésicules et même, nous ne savons pas si un manteau d'assemblage intervient dans le bourgeonnement des vésicules. Noter que la figure 14.1 montre que la sécrétion contrôlée dépend des vésicules à clathrine et la sécrétion continue dépend des vésicules COP I.

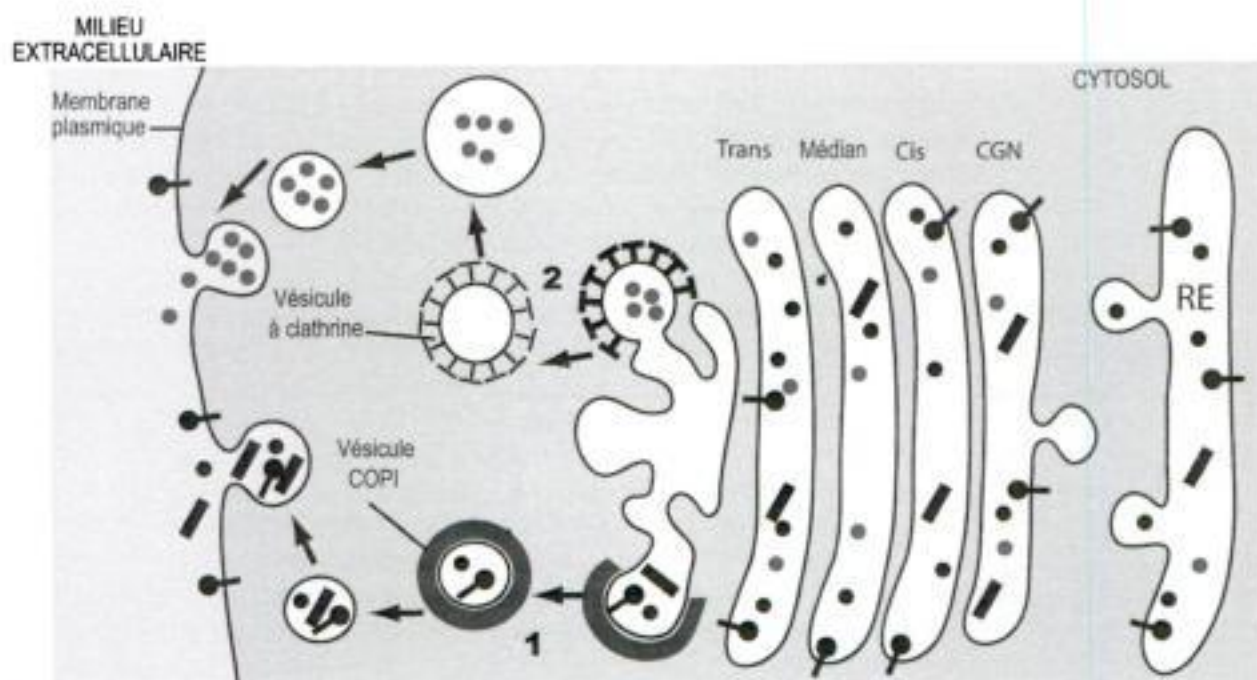


Fig. 14.15

Sécrétion continue et contrôlée.

1. Sécrétion continue. 2. Sécrétion contrôlée.

1. Exocytose continue

La voie de la sécrétion constitutive est une voie de sécrétion *continue non régulée* : c'est l'étape terminale du flux vectoriel membranaire et permanent, qui achemine des constituants destinés à la membrane plasmique, comme les glycoprotéines extrinsèques de la face externe de la membrane plasmique ou des substances solubles pour la matrice extracellulaire.

Les molécules sont transportées depuis leur site de synthèse, le réticulum endoplasmique granulaire, transitent par l'appareil de Golgi et sont excrétées, à partir du réseau trans-golgien, sans régulation et continuellement dans le milieu intercellulaire.

Ce type de sécrétion constitutive produit et renouvelle :

- la majeure partie de la production de la matrice extracellulaire : par exemple, les fibroblastes sécrètent continuellement le collagène, les lymphocytes B, les anticorps ;
- la membrane plasmique en y insérant la membrane des vésicules de transport.

2. Excrétion discontinue contrôlée

Elle n'intéresse que les produits de sécrétion qui sont utilisés de façon intermittente. Elle se fait par décharge induite par un stimulus : des ligands spécifiques se fixent sur les sites récepteurs membranaires et déclenchent ce mode d'excrétion.

a. Formation des grains de sécrétion

Le mode de formation des grains de sécrétion (ou vésicules sécrétoires) est encore très mal connu.

Les protéines destinées à la voie sécrétoire forment des agrégats parfois volumineux, trop volumineux pour que chaque protéine soit fixée sur son site récepteur. La captation des agrégats se fait dans un bourgeonnement de la membrane du TGN représentant une extension fonctionnelle de ce compartiment de l'appareil de Golgi. Un pincement de la région la plus étroite transforme le bourgeonnement en vésicule sécrétoire. Ces vésicules ont la morphologie de saccules dilatés. En fonction de l'abondance des vésicules sécrétoires, il est extrêmement fréquent que la quasi-totalité de la membrane du TGN soit utilisée (fig. 14.16).

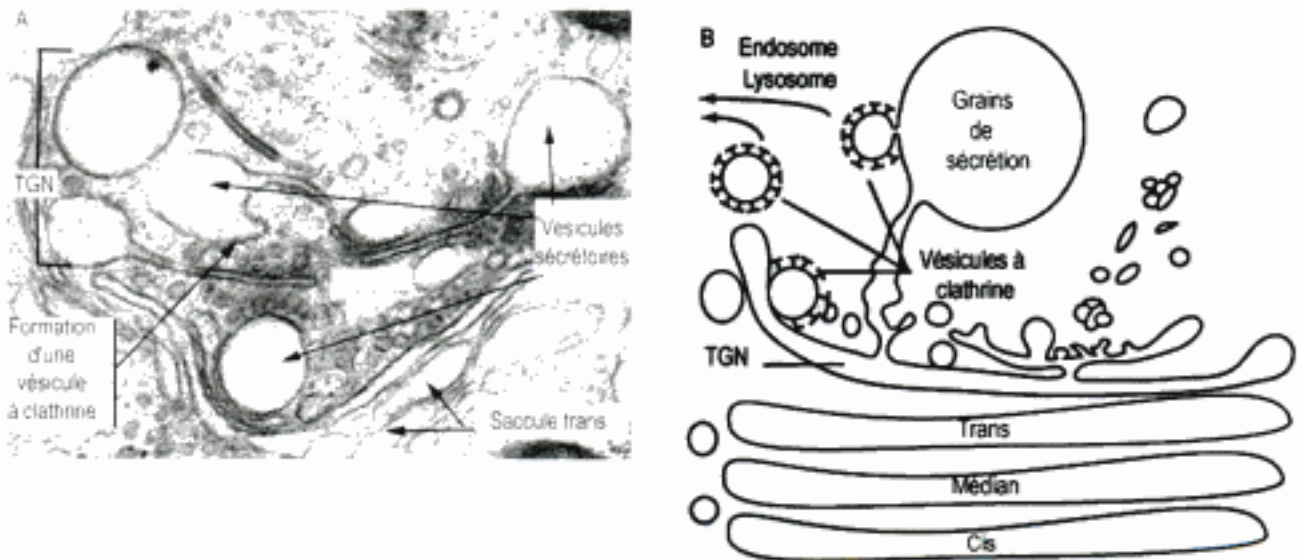


Fig. 14.16

Formation des vésicules sécrétoires.

Les vésicules sécrétoires possèdent probablement un manteau dont on ne connaît pas la composition. Ce sont de volumineuses vacuoles au contenu peu dense au moment de leur formation.

A. MET montrant la formation des vésicules sécrétoires à partir du TGN et une vésicule à clathrine en cours de formation à partir de la vésicule. **B.** Schéma d'un grain de sécrétion immature possédant encore un élément tubulaire du TGN.

b. Maturation des grains de sécrétion

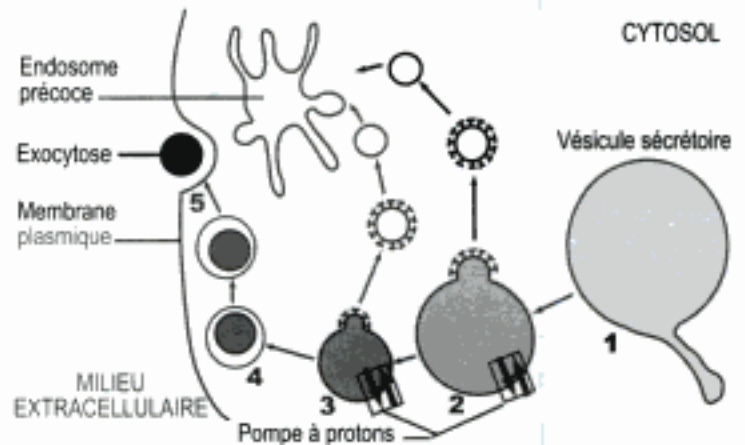
Le grain de sécrétion, qui vient de se former, diminue progressivement de volume et la densité de son contenu augmente. Les protéines contenues dans les vésicules subissent généralement une *protéolyse*. En effet, la plupart des protéines sécrétoires parviennent à l'appareil de Golgi sous une forme inactive, une proprotéine. Une protéolyse, qui se déroule dans le compartiment trans et/ou dans les grains de sécrétion, élimine la fraction inactivante de la protéine et la transforme en protéine active. Cette protéolyse se déroule en milieu dont l'acidité est créée et entretenue par des pompes à protons situées dans la membrane (fig. 14.17).

Les grains de sécrétion sont fréquemment *associés* à des vésicules à *clathrine* (c'est probablement pour cette raison qu'une erreur d'interprétation a permis de décrire ces vésicules de la sécrétion contrôlée comme des vésicules à clathrine). La membrane des grains de sécrétion bourgeonne pour former des vésicules à *clathrine* : ces vésicules récupèrent

Fig. 14.17

Maturation des grains de sécrétion.

1. Vésicule sécrétoire néoformée. 2 et 3. Maturation de la vésicule. 4. Grains de sécrétion (stockage). 5. Exocytose induite par fixation d'un ligand sur un récepteur membranaire. Les récepteurs sont des vésicules sécrétoires recyclées en direction de la membrane plasmique (via les vésicules à clathrine et les endosomes).



les protéines introduites par erreur dans le grain de sécrétion et capturent les enzymes protéolytiques. La diminution de volume est donc liée à ces « prélèvements » de membrane opérés par la formation des vésicules à clathrine. Somme toute, les vésicules à clathrine interviennent dans la maturation des vésicules sécrétoires. Les molécules transportées par les vésicules à clathrine sont récupérées par les endosomes de tri.

Arrivés à maturité, les grains de sécrétion possèdent un contenu très dense (la concentration en protéine a augmenté de 200 à 400 fois par rapport au REG) : leur membrane contient très peu de protéines par rapport aux lipides. Ils sont recyclés en fonction de leur nature soit vers la membrane plasmique, soit vers le TGN, ou acheminés aux lysosomes.

Un exemple permet d'illustrer la maturation des grains de sécrétion. L'insuline est synthétisée par le REG sous la forme d'une prépro-insuline. Dès que cette molécule est dans le RE, une endopeptidase élimine la séquence signal et transforme la prépro-insuline en pro-insuline. Dans la vésicule sécrétoire, une protéolyse clive la pro-insuline en insuline et peptide C. L'insuline se condense dans la partie centrale des grains de sécrétion, tandis que le peptide C reste à la périphérie. Des vésicules à clathrine éliminent le peptide C et les enzymes protéolytiques. Les grains de sécrétion s'accumulent dans des régions proches de la membrane : l'insuline est ainsi stockée et prête à être excrétée dans le milieu extracellulaire.

c. Migration des vésicules d'exocytose

Elle dépend de la concentration en Ca^{++} . La fixation des ligands sur les sites récepteurs augmente la concentration des ions Ca^{++} . Ces ions, contenus soit dans le REL, soit dans le milieu extracellulaire, pénètrent dans le cytoplasme par des canaux ioniques voltage-dépendants ou non. L'augmentation de la concentration en calcium joue un rôle essentiel dans la migration des vésicules en direction de la membrane plasmique.

d. Stockage des produits et libération par exocytose

Les produits élaborés dans la cellule et ayant subi une maturation complète sont stockés dans des grains de sécrétion situés au voisinage de la membrane plasmique sous le cortex cellulaire. Ils sont libérés à la demande, cette demande se manifestant par la fixation d'un ligand spécifique sur un récepteur spécifique. De nombreuses cellules à sécrétion interne ou externe excrètent leur produit dans de telles conditions, par

Hidden page

directions bien précises. Ils sont contrôlés par un système complexe d'adressage qui permet aux molécules d'atteindre leur destination.

2. Flux centrifuges

a. Flux vectoriel permanent centrifuge

Il se fait depuis le réticulum endoplasmique (fig. 14.18) qui synthétise les molécules destinées à être excrétées.

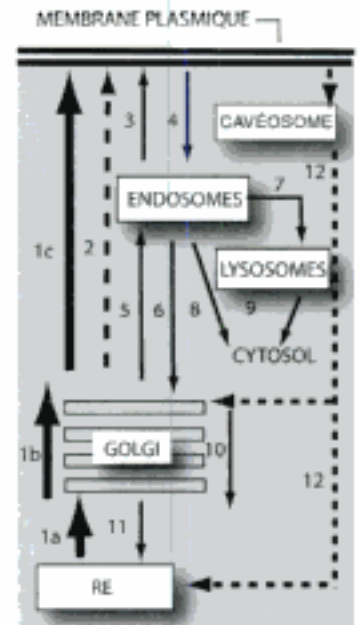


Fig. 14.18

Flux membranaire dans le système endosomal (explication dans le texte).

Les protéines élaborées par le réticulum endoplasmique (1a) gagnent l'appareil de Golgi grâce à des vésicules de transport de recouvertes de COP II. Dans l'appareil de Golgi, les vésicules COP I transportent leurs cargos de saccule en saccule (1b). À partir de l'appareil de Golgi, les molécules sont dirigées soit vers la membrane plasmique (1c) (sécrétion constitutive par des vésicules recouvertes de COP I [1c] ou contrôlée par des vésicules recouvertes de clathrine [2]) soit vers les lysosomes (enzymes lysosomales synthétisées par le réticulum endoplasmique) *via* les endosomes (5-7). Ce flux de membranes est un *flux continu* : il est compensé par un flux centripète ou rétrograde (non représenté sur la figure 14.15) qui se produit de la membrane plasmique en direction des endosomes ou éventuellement de l'appareil de Golgi.

b. À partir des endosomes

Un flux se fait en direction de la membrane plasmique (3) : ce flux centrifuge concerne le recyclage de molécules endocytées comme certains récepteurs.

3. Flux centripètes

- Un flux centripète part de la membrane plasmique (endocytose) pour gagner les endosomes (4) : les vésicules sont soit recouvertes de clathrine (endocytose induite par les récepteurs) soit dépourvues de man-

Hidden page

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Le système endomembranaire contient

- ☐ A. Le réticulum endoplasmique.
- ☐ B. L'appareil de Golgi.
- ☐ C. Les peroxysomes.
- ☐ D. Les lysosomes.
- ☐ E. L'enveloppe nucléaire.

2. Localisation des vésicules à manteau de type COP

- ☐ A. Les vésicules COP I entre RE et CGN.
- ☐ B. Les vésicules COP I entre les différents saccules et réseaux de l'appareil de Golgi partant du CGN vers le TGN.
- ☐ C. Les vésicules COP II entre les différents saccules et réseaux de l'appareil de Golgi partant du TGN et du CGN.
- ☐ D. Des vésicules COP II entre le CGN et le réticulum lisse.
- ☐ E. Les vésicules COP I entre le TGN et la membrane plasmique.

3. Localisation des vésicules à manteau de type adaptine/clathrine

- ☐ A. Entre le TGN et la membrane plasmique.
- ☐ B. Entre la membrane plasmique et les endosomes.
- ☐ C. Entre la membrane plasmique et le TGN.
- ☐ D. Entre les grains de sécrétion et la membrane plasmique.
- ☐ E. Entre les grains de sécrétion et les lysosomes.

4. Les protéines GTPases intervenant dans la formation des vésicules

- ☐ A. Sont des protéines trimériques.
- ☐ B. Sont toujours associées à une membrane.
- ☐ C. Seule la forme GTP est associée à une membrane.
- ☐ D. Sont les premières molécules à se fixer sur la face cytosolique de la membrane.
- ☐ E. Sont spécifiques de la membrane sur laquelle elles se fixent.

5. Les vésicules COP II

- ☐ A. La protéine Sar1 est la première molécule à se fixer.
- ☐ B. Les protéines SEC ont notamment pour fonction de favoriser le bourgeonnement.
- ☐ C. Les protéines SNARE sont incorporées après le bourgeonnement.
- ☐ D. La protéine Sar1 reste associée à la membrane après le départ des protéines SEC.
- ☐ E. Les SNARE sont les seules molécules à intervenir dans le processus de fusion avec le compartiment accepteur.

6. Les vésicules COP I

- ☐ A. Sont recouvertes par des protéines SEC différentes de celles recouvrant les vésicules COP II.
- ☐ B. Leur formation est ATP-dépendante.
- ☐ C. Recyclent les récepteurs spécifiques du REG.
- ☐ D. Recyclent les SNARE vers le REG.
- ☐ E. Ne perdent pas leur manteau protéique.

7. Les vésicules adaptines/clathrines

- ☐ A. Il n'existe qu'un seul type d'adaptine.
- ☐ B. La forme activée de l'adaptine est un dimère.
- ☐ C. C'est le recrutement des triskélions sur les adaptateurs qui favorise le bourgeonnement.
- ☐ D. Sont dépourvues de SNARE.
- ☐ E. Leur fermeture dépend de la dynamine.

8. Les grains de sécrétion

- ☐ A. Leur volume augmente avec le temps.
- ☐ B. Leur densité augmente avec le temps.
- ☐ C. Dans certains types cellulaires le processus de maturation des protéines se termine dans les grains.
- ☐ D. Les grains migrent grâce au réseau tubulines.
- ☐ E. On peut observer de la clathrine associée aux grains.

QROC

1. Donner la définition du transport antérograde.
2. Que se passe-t-il lorsque les vésicules à manteau perdent leur revêtement ?
3. Citer le mode d'insertion des protéines Sar1 dans le feuillet lipidique.
4. Quelle est la fonction de la séquence KDEL ?
5. Les séquences d'adressage des protéines dans le RE sont des séquences de quelques acides aminés sauf une, laquelle et pour quel type de molécules intervient-elle ?
6. Quelle est la fonction des protéines giantine et P115 ?
7. Quelle est la différence entre les cis-SNARE et les trans-SNARE ?
8. Dans le flux rétrograde entre le CGN et le RE, quelle est la fonction de l'ATP ?
9. En quoi le réseau d'actine gêne-t-il la migration des grains de sécrétion ?
10. Qu'est-ce qu'un cavéosome ?
11. Le cavéosome relie la membrane plasmique à quel type d'organite ?

Pour les corrections, se reporter à la page 586

L'endocytose et les endosomes

I. L'endocytose II. Les endosomes

L'endocytose recouvre l'ensemble des transports cytotiques de la membrane plasmique, l'adjectif cytotique signifiant que la pénétration des molécules de la cellule se déroule grâce à des mouvements plus ou moins importants de la membrane plasmique. Endocytose et endosomes sont regroupés dans le même chapitre puisque les endosomes sont la destination habituelle des vésicules ou des vacuoles d'endocytose.

Le système endosomal a été désigné par des termes extrêmement variés : le plus récent est vraisemblablement celui de CURL qui est un sigle anglo-saxon pour *Compartment of Uncoupling of Receptor and Ligand* signifiant zone de séparation du récepteur et de son ligand. Le terme de réceptosome a été également utilisé ainsi que ceux d'endosomes tubulovésiculaires, endosomes de tri. Dans certains ouvrages, on trouve pour désigner les endosomes précoces le terme d'endosomes périphériques qui souligne d'une manière tout à fait logique l'emplacement de ce que les Américains appellent *early endosome*. Nous nous en tiendrons à la traduction littérale qui est endosome précoce. Ces variations terminologiques reflètent bien les incertitudes sur la réelle organisation des endosomes ou plus précisément du système endosomal.

Le système endosomal est décrit comme un ensemble de structures constitué par les *endosomes précoces* formé par des *segments tubulaires* et des *segments vacuolaires*, *corps multivésiculaires*, les *endosomes tardifs*. La controverse actuelle porte sur l'unité de ce système. Les divers types d'endosome précédemment énumérés appartiennent-ils à un seul compartiment rassemblant ces sous-domaines fonctionnels interconnectés ? Sont-ils des *organites permanents* ou des intermédiaires transitoires ? L'exposé suivant prend en compte l'hypothèse que le système endosomal est constitué par l'endosome précoce qui subit des modifications progressives le transformant en corps multivésiculaires puis en endosomes tardifs.

I. L'endocytose

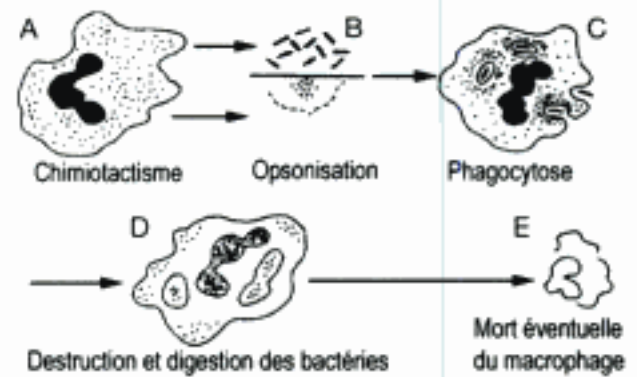
L'endocytose est un terme général, qui regroupe la phagocytose et la pinocytose, c'est-à-dire l'ensemble des mécanismes responsables de

Hidden page

Fig. 15.1

Les principales étapes de la phagocytose.

- A.** Le chimiotactisme du polynucléaire neutrophile est déclenché par l'opsonisation des bactéries (**B**).
C. Le polynucléaire émet des pseudopodes qui ensèrent les bactéries.
D. Les bactéries sont digérées dans des phagolysosomes.

**a. Opsonisation**

Des bactéries pénètrent dans un organisme. Elles sont immédiatement recouvertes d'un manteau d'opsonine (immunoglobuline G et C3, un composant du complément). L'opsonisation potentialise la phagocytose de nombreuses bactéries (pneumocoque, méningocoque, streptocoque, etc.). En effet, elle neutralise leur capsule polysaccharidique ou polypeptidique dont la propriété est de repousser les macrophages et les polynucléaires.

b. Chimiotactisme

Grâce à leurs pseudopodes, les macrophages migrent, à la vitesse de 0,7 à 10 $\mu\text{m}/\text{min}$, vers les lieux occupés par les bactéries. Ils sont attirés par le facteur activé du complément C5a, le tripeptide formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine (FMLP) ou des chimiokines.

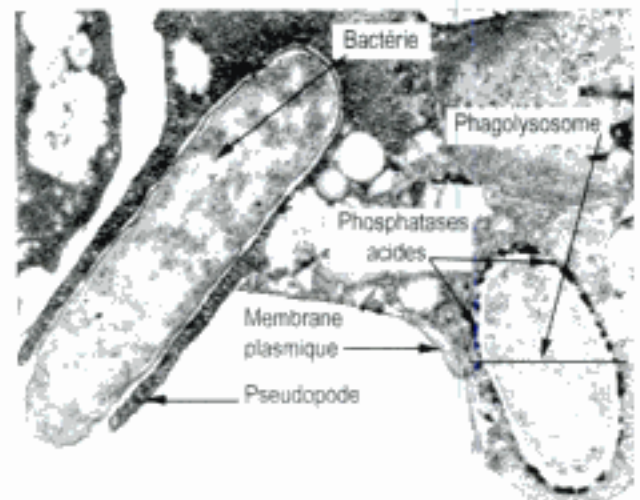
c. Capture

Les pseudopodes entrent en contact avec la bactérie opsonisée (fig. 15.2). Les *récepteurs Fc* (FcR) du phagocyte se lient au complexe bactéries-anticorps (qualifié d'opsonisant) par l'extrémité (restée libre) du fragment Fc de ces anticorps. Il en est de même pour les récepteurs de C3 (fig. 15.3).

Fig. 15.2

Phagocytose d'une bactérie.

Une bactérie en forme de bâtonnet est recouverte presque totalement par des pseudopodes. Ces pseudopodes, en fusionnant, enferment la bactérie dans une vacuole dénommée phagosome. Des vésicules à hydrolases déversent dans le phagosome des enzymes digestives et transforment le phagosome en phagolysosome. Les phosphatases acides, marqueurs des lysosomes, ont été mises en évidence par une technique de coloration histochimique ($\times 18\,000$) (Cliché de D. Ford Bainton ; *J. Cell. Biol.*, 58, 1973, 249-264).



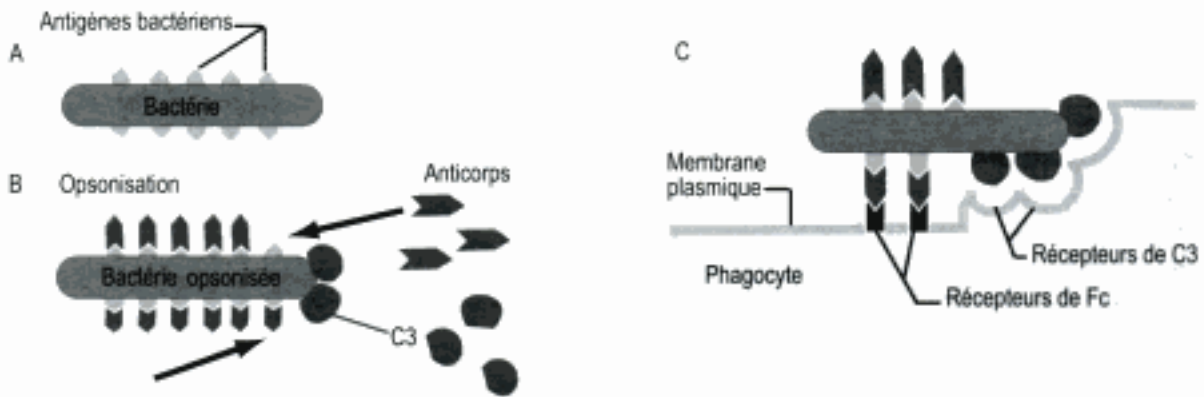


Fig. 15.3

Activation des récepteurs du phagocyte par les segments Fc et par C3.

La formation des complexes FcR–Fc active les canaux ioniques associés aux récepteurs. Une quantité importante d'ions sodium pénètre dans le cytoplasme, provoque une chute du potentiel de membrane, une accumulation de phospho-inositides, un réarrangement des molécules d'actine, ainsi que la formation de H_2O_2 et de substances antibactériennes dans les lysosomes.

d. Internalisation

Le cortex cellulaire envoie des pseudopodes autour de la bactérie. L'actine est responsable du mouvement des pseudopodes : une inhibition de la polymérisation de l'actine par la cytochalasine interrompt la phagocytose. Les bactéries opsonisées adhèrent aux macrophages et demeurent dans des invaginations de la membrane. Un phospho-inositide, le phosphatidylinositol 4,5 biphosphate (PtdIns 4,5 P2 ou PIP2), qui s'est accumulé sous la membrane plasmique, contrôle la distribution et le réarrangement des molécules d'actine et des nombreuses protéines liées à l'actine. L'entrée massive de sodium, au moment de la phase d'adhérence, provoque une onde de dépolarisation qui libère du calcium contenu dans le réticulum endoplasmique. Les ions Ca^{++} sont responsables de la formation de l'actomyosine. Les bords libres des pseudopodes entrent en contact et fusionnent à la manière d'une fermeture Éclair (zipper interaction). La vacuole ainsi formée ou phagosome contient la bactérie.

Le phosphatidylinositol 4,5 biphosphate PIP2, dérivé de l'inositol intervenant dans la constitution de la membrane plasmique, joue le rôle le plus important dans la transmission des informations : le clivage enzymatique de PIP2 par la phospholipase C3 aboutit à deux seconds messagers : l'inositol triphosphate (IP3) et le diacylglycérol (DAG).

e. Digestion

La destruction des micro-organismes phagocytés dépend de l'action de molécules oxydantes toxiques produites par la forme réduite de NADPH oxydase (nicotinamide adénine diphosphate réduite), qui est localisée dans la membrane du phagosome, par des défensines (peptides de faible poids moléculaire), par les protéases et les hydrolases acides provenant des vésicules à hydrolases qui fusionnent avec la membrane du phago-

some. Après fusion des membranes, les hydrolases pénètrent dans le phagosome qui devient alors une vacuole digestive, un *phagolysosome* (voir chapitre 18, p. 511).

4. Cellules non spécialisées dans la phagocytose

Les bactéries utilisent des stratégies différentes pour infecter leur hôte. Certaines demeurent extracellulaires (par ex. *Escherichia coli* entéropathogène), d'autres (par ex. *Escherichia coli* uropathogène, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium*) envahissent des cellules non phagocytaires en les contraignant à les phagocyter. Elles proliféreront dans les compartiments vacuolaires. Ces bactéries induisent leur propre phagocytose en exprimant une adhésine. Cette molécule se fixe avec une forte affinité sur une protéine d'adhésion utilisée habituellement par la cellule pour adhérer à une autre cellule ou à la matrice extracellulaire. Cette adhésion déclenche l'accumulation de phosphatidylinositol 4,5 biphosphate au voisinage de la membrane, un réarrangement des molécules d'actine et finalement la formation de pseudopodes qui permettent l'internalisation de la bactérie.

5. Phagocytose frustrée

a. Définition

C'est l'impossibilité pour les phagocytes professionnels de phagocyter certains éléments en raison leur taille (cristaux d'acide urique) ou d'hydrolyser des bactéries (bacille de Koch), des particules inorganiques comme l'amiante (voir chapitre 18, « Les phagolysosomes », p. 520).

b. Évolution

Les volumineux cristaux non phagocytés d'acide urique s'accumulent dans le milieu extracellulaire (goutte). L'inaptitude à digérer le contenu des phagolysosomes provoque la mort des phagocytes professionnels qui sont à leur tour phagocytés par des macrophages. Une succession de cycles de phagocytose aboutit à la destruction du tissu environnant. Ainsi, l'inhalation de particules de silice détruit progressivement le tissu pulmonaire (silicose).

B. Pinocytose

1. Définition

La pinocytose (du grec *pinein*, « boire ») est la capture, par la cellule, de macromolécules et de solutés dans de petites vésicules qui se forment par bourgeonnement de la membrane plasmique en direction du cytoplasme.

Il existe quatre types distincts de vésicules (fig. 15.4) en fonction de leur taille, de la nature éventuelle de leur revêtement et du déroulement du phénomène :

- les vésicules non recouvertes (tout au moins dont le manteau n'a pas encore été décelé soit par la MET, soit par une toute autre technique) ;
- les vésicules à clathrine qui proviennent de la pinocytose induite par un récepteur : des macromolécules se lient à des récepteurs de la surface

Hidden page

3. Endocytose couplée à des récepteurs

Ce mode d'internalisation est une des principales activités de la membrane des cellules eucaryotes. Les puits recouverts à l'origine des vacuoles d'endocytose ont une surface égale à 2 % de la surface totale de la membrane plasmique. Leur durée de vie étant de 1 à 2 min, on estime qu'en deux heures, une surface égale à une cellule de la membrane plasmique est internalisée. L'homéostasie de la membrane plasmique est assurée par l'exocytose.

a. Définition

Il s'agit d'une forme d'endocytose hautement spécifique, *très sélective* (n'admettant qu'un seul ligand), médiée par des récepteurs, caractérisée par la formation de vésicules à manteau (décrites aussi sous les noms de vésicules hérissées, recouvertes, épineuses, *coated vesicles*, acanthosomes, etc.) grâce à un processus d'internalisation d'un domaine de la membrane plasmique contenant des récepteurs adaptine-dépendants et recouvert sur sa face interne ou cytosolique par des molécules de *clathrine*.

b. Molécules intervenant dans la formation des vésicules à clathrine

► Récepteurs

Les récepteurs possèdent un *domaine extracellulaire* capable de se lier à un ligand spécifique, un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique qui contient un signal d'internalisation FRXY (phénylalanine, arginine, X, tyrosine : X désigne un acide aminé quelconque) contenant très fréquemment des résidus tyrosine (fig. 15.6).

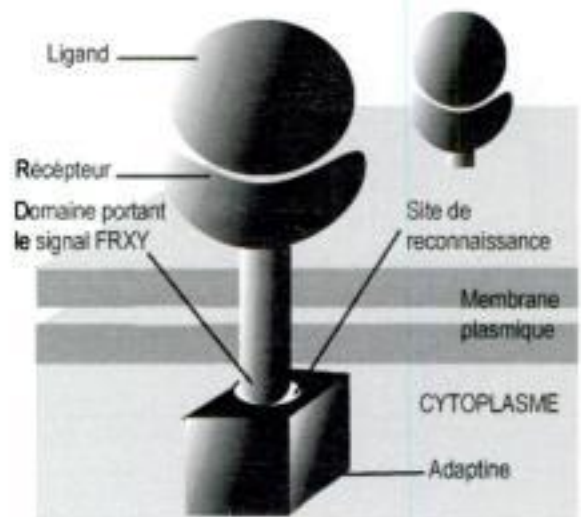


Fig. 15.6

Reconnaissance de la substance à internaliser.

► Protéines adaptatrices (Adapter Protein, AP 1, 2, 3, 4)

Ces molécules dénommées également *adaptines* interviennent comme des intermédiaires entre la membrane plasmique et le manteau de clathrine. Chaque complexe AP (340 kDa) est constitué par quatre sous-unités différentes. Les adaptines s'associent spécifiquement avec l'extrémité globulaire de chacune des chaînes lourdes : une seule sous-unité du complexe AP participe au co-assemblage des triskélions et stabilise ainsi

le revêtement de la vésicule. Les vésicules formées par invagination de la membrane plasmique contiennent le complexe AP2. Les complexes AP2 possèdent un site qui interagit avec le signal d'internalisation FRXY et un site capable de s'associer à la clathrine.

► Clathrine

La *clathrine* (180 kDa) est un complexe protéique de trois chaînes lourdes (longues chaînes polypeptidiques) s'achevant chacune par une extrémité globulaire et de trois chaînes légères (chaînes polypeptidiques courtes) (fig. 15.7), qui constituent trois pieds (triskélion). Ces molécules sont légèrement courbées. Les triskélions possèdent la particularité de se polymériser (fig. 15.8) à la surface de la membrane en association avec les molécules AP.

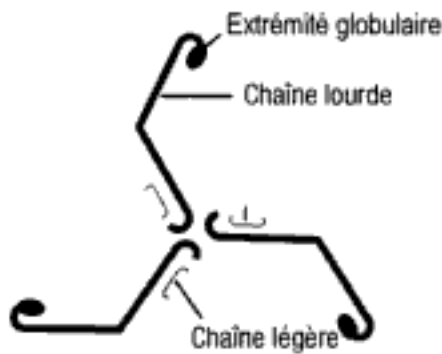


Fig. 15.7
Structure de la molécule de clathrine.

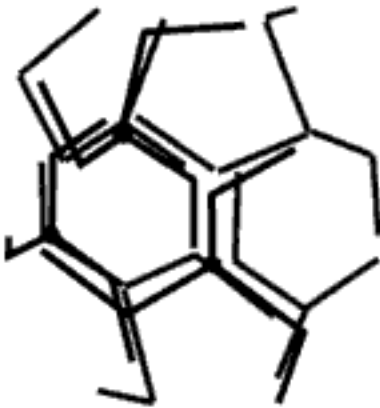


Fig. 15.8
Polymérisation des molécules de clathrine.

c. Structure tridimensionnelle d'une vésicule à clathrine

Le revêtement fibreux d'une vésicule de clathrine est formé par l'association de 36 triskélions liés à la membrane de la vésicule par AP2 (fig. 15.9). Chaque AP2 est associée à la séquence de reconnaissance du domaine cytosolique du récepteur.

d. Mécanisme de l'endocytose médiée par un récepteur

L'endocytose qui dépend des complexes AP2/clathrine se déroule en plusieurs étapes : la formation des puits recouverts, l'internalisation des puits recouverts, la fermeture de la vésicule dans le cytoplasme.

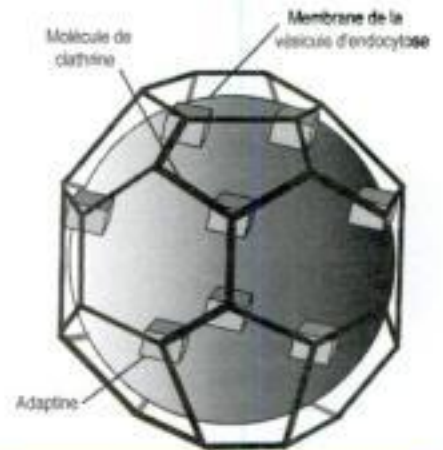


Fig. 15.9

Vésicule recouverte d'un manteau de clathrine/adaptine.

► Formation des puits recouverts

- Il s'agit de l'assemblage des molécules d'adaptine qui viennent au contact de la face cytosolique de la membrane plasmique. Ce recrutement des complexes AP2 est régulé par des GTPases.
- Le recrutement des molécules de clathrine, déclenché par les molécules d'adaptine, déforme la membrane plasmique qui s'incurve en direction du cytosol. Cette dépression recouverte est un *puits recouvert*.
- Les récepteurs porteurs de leur molécule migrent vers les puits recouverts où ils se regroupent. Leur signal d'internalisation situé dans leur domaine cytosolique interagit avec les sites de reconnaissance des molécules d'adaptine (fig. 15.10).

► Internalisation des puits recouverts

L'autoassemblage des molécules de clathrine se poursuit : il ne consomme pas d'énergie. La membrane des puits recouverts s'invagine et s'internalise grâce aux forces développées par l'assemblage des molé-

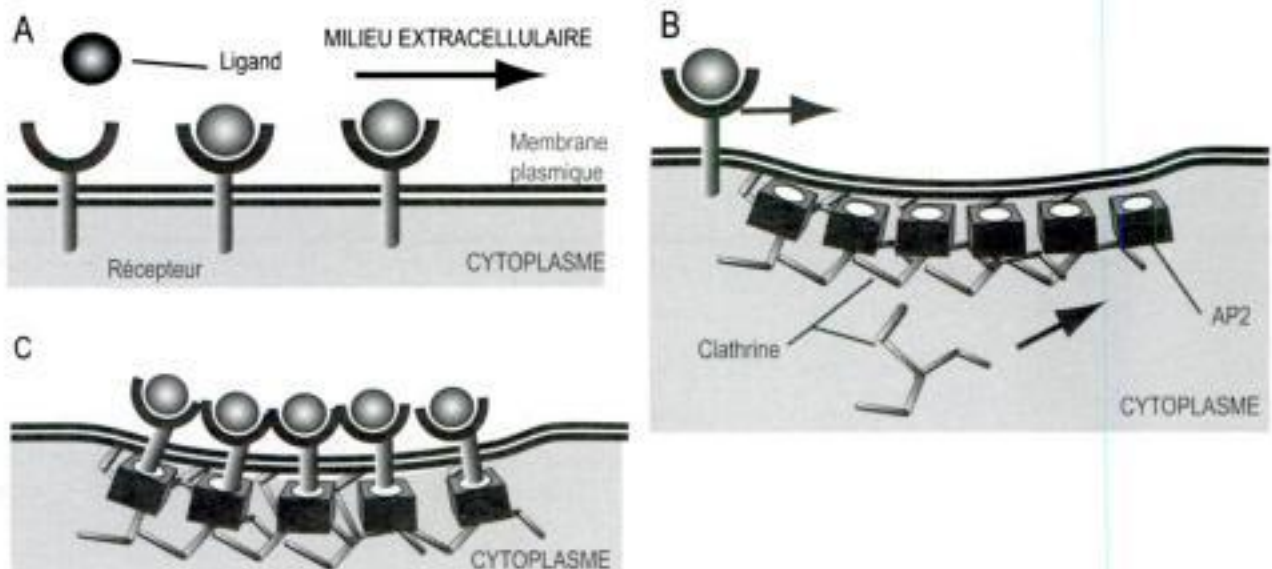


Fig. 15.10

Formation des puits recouverts.

A. Migration des complexes récepteur-ligand. B. Puits recouvert. C. Puits recouvert et fixation du complexe récepteur-ligand.

cules de clathrine et des autres protéines d'enveloppe situées sur la face cytoplasmique. L'invagination de la membrane plasmique prend la forme d'une vésicule recouverte d'une corbeille à mailles hexagonales et pentagonales (8 hexagones et 12 pentagones) dont la cavité est encore reliée au milieu extracellulaire par un col.

► Fermeture des vésicules à clathrine

Elle dépend d'une GTPase, la *dynamine*, qui est enroulée en spirale autour du col. Cette molécule contient trois séquences capables de se lier au GTP. La dynamine forme un complexe avec GTP : ce complexe se dispose en anneau autour du col. La dynamine hydrolyse GTP. Au niveau du col, les feuillettes non cytosoliques se rapprochent. Ce rapprochement dépendrait de protéines (recrutées par la dynamine) qui faciliteraient la courbure de la membrane soit mécaniquement, soit en modifiant sa composition lipidique. Juste avant l'individualisation de la vésicule, il se forme le *pore de fission* qui apparaît sous la forme d'un raccordement aqueux entre la lumière de la vésicule et le milieu extracellulaire : la durée de vie de ce pore de fission n'excède pas quelques centièmes de milliseconde puis la vésicule est libérée dans le milieu intracellulaire (fig. 15.11).

L'inhibition de l'hydrolyse du GTP par le GTP γ (forme non hydrolysable du GTP) arrête l'endocytose à ce stade. Les formes mutantes de la dynamine sont dépourvues de toute activité hydrolytique, incapables de se lier au GTP. Elles inhibent l'endocytose des vésicules à clathrine.

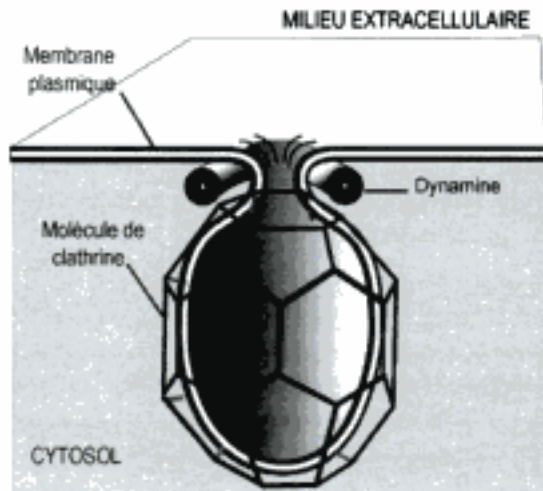


Fig. 15.11

Individualisation de la vésicule à clathrine.

Une GTPase, la *dynamine*, forme, avec GTP, un complexe qui se dispose en anneau autour du col et qui intervient dans la fusion membranaire permettant de libérer la vésicule à clathrine.

► Déplacement des vésicules d'endocytose

Il dépend des microtubules. L'association des vésicules d'endocytose aux microtubules se produit de la présence de CLIP170 (*Cytoplasmic Linker Protein* ; protéine cytoplasmique de liaison) qui relie la membrane des vésicules aux microtubules. La dépolymérisation des microtubules provoquerait le déplacement des vésicules.

► Fusion des vésicules d'endocytose en endosomes précoces

En quelques secondes, les vésicules d'endocytose se libèrent des molécules de clathrine et d'adaptine (fig. 15.11), grâce à d'une enzyme,

Hidden page

4. Découverte de l'endocytose médiée par des récepteurs

La découverte de ce mode d'endocytose découle des études de malades atteints d'hypercholestérolémie familiale (FH : *Familial Hypercholestérolémia*). Cette affection se caractérise par un taux élevé de cholestérol et par des infarctus survenant souvent avant l'âge de 40 ans.

a. Structure du LDL

Le cholestérol est insoluble dans les liquides de l'organisme. Ingré avec la nourriture ou synthétisé par le foie, il ne peut circuler dans l'organisme que grâce à un transporteur appelé LDL, une particule sphérique de 20 à 30 nm de diamètre. La face externe des LDL se compose d'une couche de phospholipides et de cholestérol, elle contient aussi une apo-B-protéine. Cette sphère transporte 1 500 molécules de cholestérol estérifié.

b. Non-internalisation des LDL par les malades atteints de FH

Les LDL non capturés par les cellules provoquent une augmentation du taux de cholestérol sanguin. Or des expériences ultérieures ont permis de découvrir que des patients non atteints par la FH possèdent un récepteur des LDL dans la membrane plasmique. La FH provient de mutations des gènes codant pour les récepteurs FH. Dans un type de mutation, les LDL ne se lient pas aux récepteurs des LDL, dans l'autre type, les LDL se lient aux récepteurs, mais ne peuvent pas être internalisés, car les récepteurs ne gagnent pas les puits recouverts. Dans le premier type, la mutation atteint le domaine extracellulaire du récepteur, dans le deuxième, elle atteint le domaine cytoplasmique (un simple changement d'une tyrosine par une cystéine en est responsable).

Il convient de noter qu'un homme sur 500 possède un gène récepteur de LDL défectueux (transmission héréditaire de type récessif). Le cholestérol, mal absorbé par les cellules, se dépose sur la paroi des artères, en particulier celle des artères coronaires : ces sujets sont prédisposés à l'infarctus du myocarde.

c. Récepteurs spécifiques de LDL

L'apo-B-protéine qui entre dans la constitution de la face externe des LDL se fixe sur les récepteurs LDL de la membrane plasmique, lesquels se regroupent ensuite dans les puits recouverts.

Les récepteurs des LDL de la membrane plasmique se lient à l'apoprotéine B au niveau d'un puits recouvert par les complexes clathrine/AP2. L'interaction entre le signal de tri NPXY, situé sur l'extrémité cytosolique des récepteurs LDL, et les complexes AP2 déclenche le bourgeonnement de la membrane. La vésicule, contenant le récepteur et la particule LDL, se ferme et transporte son contenu en direction des endosomes précoces.

Après endocytose, les particules de LDL perdent leur revêtement par action de molécules Hsp70. Les vésicules transportant les LDL forment par fusion les endosomes précoces : des vésicules de transport les livrent aux endosomes tardifs qui fusionnent avec des lysosomes.

Le catabolisme de l'apo-B-protéine libère des acides aminés, tandis que les esters de cholestérol donnent du cholestérol et des acides gras. La membrane incorpore immédiatement le cholestérol. Les acides gras forment de nouvelles molécules de phospholipides.

d. Contrôle de la synthèse des récepteurs des LDL

La synthèse des récepteurs au LDL dépend du taux de cholestérol intracellulaire : s'il est bas, la synthèse des récepteurs au LDL, par la cellule qui a besoin de cholestérol, se déclenche (rétrocontrôle cellulaire).

C. Cavéoles

1. Définition

Une cavéole est un microdomaine dynamique provenant d'une invagination qui, à ce niveau, est entièrement constituée par un raft. Le marqueur est une protéine transmembranaire, la cavéoline. La membrane plasmique possède de nombreux récepteurs dont certains sont ancrés dans la bicouche par un groupement *glycosyl-phosphatidyl-inositol*.

2. Taille et forme

Les cavéoles, d'un diamètre moyen de 50 à 80 nm, sont des invaginations de la membrane plasmique en forme de flasque dont la cavité est reliée au milieu extracellulaire par une partie rétrécie, le col. Morphologiquement, en MET, la membrane des cavéoles apparaît lisse, sans revêtement. Ces termes sont utilisés par *opposition* aux vésicules à manteau de clathrine. En fait, la membrane des cavéoles possède un revêtement granulaire, non visible en ME conventionnelle, mais décelable par les techniques de microscopie électronique à balayage après cryodécapage. Ce revêtement est constitué par les extrémités amino et carboxyterminales des molécules de cavéoline/VIP21 (*Vesicular Integral-membrane Protein* ; protéine intrinsèque de la membrane des vésicules).

3. Localisation

Les cavéoles sont très nombreuses dans les cellules des endothéliums vasculaires, où elles occupent *plus de 10 % de la surface*, et dans la cellule musculaire squelettique où elles furent découvertes il y a plus d'un demi-siècle. Elles sont également particulièrement nombreuses dans les *adipocytes* et dans les *fibroblastes*. Elles existent dans pratiquement toutes les cellules eucaryotes animales à l'exception des hématies, des lymphocytes, des cellules nerveuses, des cellules végétales et des levures.

4. Constitution biochimique de la membrane des cavéoles

Elle a la constitution d'un DIG.

a. Cavéolines

► Famille des cavéolines

Elle comprend trois molécules dont le PM est compris entre 21 et 24 kDa. Les *cavéolines-1* et *2* sont exprimées dans de très nombreux tissus et cellules tandis que la *cavéoline-3* est distribuée uniquement dans les tissus musculaires.

Hidden page

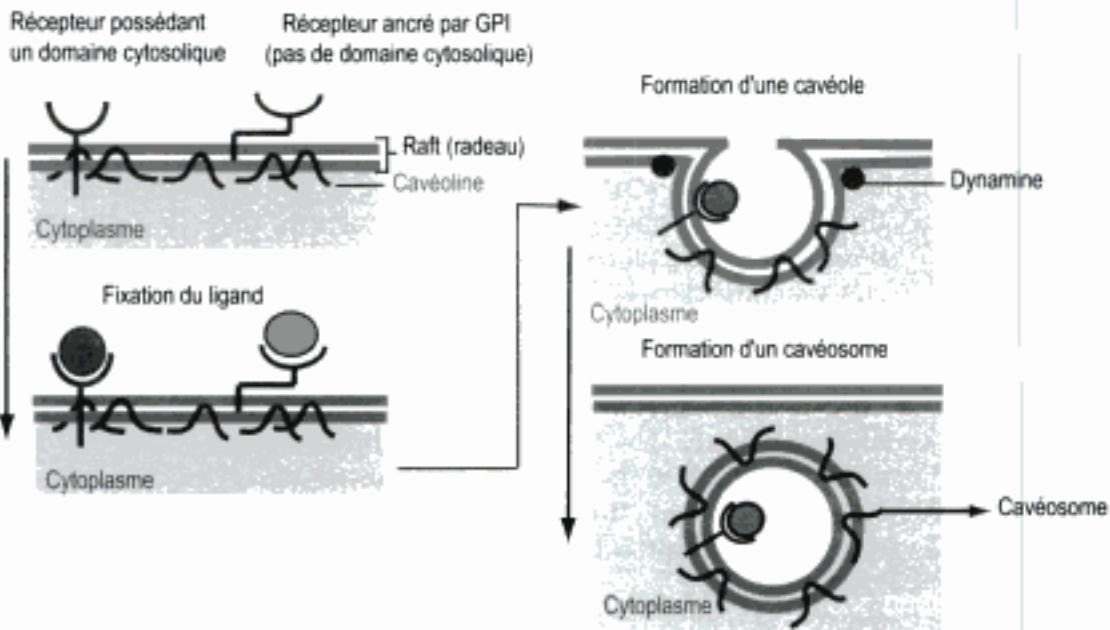


Fig. 15.13

Formation d'une cavéole par invagination d'un raft médiée par la fixation d'un ligand sur un récepteur.

Ces récepteurs appartiennent à deux catégories très différentes : les récepteurs qui possèdent un domaine cytosolique comme le récepteur du CMH de type I ou des facteurs de croissance, et les récepteurs dépourvus de domaine cytosolique comme le récepteur du tétrahydrofolate, une molécule qui intervient dans le transport de molécules utilisées en particulier dans la synthèse des acides aminés.

L'internalisation de la membrane des cavéoles est inhibée par les inhibiteurs des kinases (staurosporine, génistéine) et nettement stimulée par un inhibiteur des phosphatases, l'acide okadaïque. Les cavéoles internalisées au cours du traitement par l'acide okadaïque s'accumulent dans la région périnucléaire, où elles constituent des groupes volumineux ou fusionnent pour former les cavéosomes.

b. Évolution des cavéoles

Les cavéoles peuvent se fermer, rester liées à la face interne de la membrane plasmique puis s'ouvrir à nouveau. Cette fermeture est ATP-dépendante.

Les cavéoles peuvent s'isoler comme les autres types de vacuoles d'endocytose, être transportées pour former les *cavéosomes* en fusionnant les unes avec les autres.

La *cavéoline-1* des cavéoles est liée au cytosquelette d'actine. Elle maintient ainsi des cavéoles à la surface cellulaire jusqu'à ce qu'un stimulus approprié déclenche le détachement du cytosquelette, la fission de la membrane cellulaire et la migration vers les compartiments intracellulaires. Cette endocytose est beaucoup plus lente que celle des vésicules à clathrine. L'activité GTPasique de la *dynamine* est nécessaire à la fermeture de la cavéole et son détachement. La micro-injection d'anticorps anti-dynamine inhibe la fermeture des cavéoles.

c. Cavéosomes

Les cavéoles après internalisation fusionnent pour former des cavéosomes. Les cavéosomes diffèrent des endosomes précoces par leur pH neutre et par l'expression de la cavéoline-1.

Les cavéosomes sont des organites limités par une membrane possédant un revêtement constitué par des molécules de cavéoline, qui émettent en direction du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi des vésicules recouvertes de COP-I.

On ignore si les cavéosomes sont uniquement un centre de fusion des vésicules cavéolaires ou si elles interviennent comme centre de tri envoyant les ligands soit vers l'appareil de Golgi, soit sur le réticulum endoplasmique. Les expériences de marquage de vésicules cavéolaires avec SV 40 et CTX-FITC (*Cholera Toxine-Fluoresceïne Isothiocyanate* : toxine cholérique, fluoresceïne isothiocyanate ; la toxine du choléra marque les gangliosides GM1, un constituant habituel des rafts, et la FITC permet de voir en microscopie confocale les régions sur lesquelles se fixent CTX) suggèrent que les cavéosomes interviennent dans le tri des ligands. SV 40 est ciblé vers le réticulum endoplasmique sans traverser l'appareil de Golgi tandis que le CTX est trié en direction de l'appareil de Golgi. Cependant certains auteurs pensent que le ciblage de SV 40 et de CTX est médié par des vésicules COP.

6. Fonctions des cavéoles

En dépit des très nombreux travaux inspirés par les cavéoles, il semble qu'elles constituent un des derniers compartiments cellulaires pour lequel nous ne disposons pas d'une définition fonctionnelle très claire.

Les cavéoles sont fonctionnellement associées :

- à la potocytose (du grec *potos* : action de boire), voie spécialisée de l'internalisation des cavéoles qui permet l'acidification et le transport de petites molécules ;
- à la transcytose (voir plus loin) ;
- à la régulation du taux de calcium intracellulaire ;
- à la formation du système transverse des fibres musculaires striées squelettiques et des myocytes cardiaques ;
- à la capture du folate ;
- à la transmission de signaux : cette spécialisation membranaire intègre des messages entrant ou sortant de la cellule ;
- au maintien du taux du cholestérol intracellulaire. La cavéoline dont la production est contrôlée par le cholestérol se lie aux molécules de cholestérol. Les cellules dont les gènes, codant pour les cavéolines, ont subi une mutation, possèdent des rafts profondément altérés. Les cavéoles et les cavéolines sont impliquées dans la régulation du taux du cholestérol intracellulaire et du cholestérol contenu dans la membrane plasmique.

La méthyl- β -cyclodextrine, la filipine qui se fixe sur le cholestérol (ou l'oxydation du cholestérol), bloquent sélectivement la capture de protéines modifiées comme l' α 2-macroglobuline. Ces molécules bloquent également une très grande variété de types de signalisation comme ceux qui dépendent des récepteurs de l'insuline, du PDGF, de IL2 et IL6 des récepteurs apoptotiques (Fas-R).

La *déplétion* en cholestérol (ou son oxydation) entraîne la désorganisation d'une cascade de signalisations en excluant toute communication efficace entre les récepteurs et leurs effecteurs. Les microdomaines riches en cholestérol sont essentiels car ils constituent des plateformes bidimensionnelles optimales pour les interactions entre les molécules requises aux différents niveaux de la cascade de signalisations.

Cette capacité peut varier au cours du mécanisme de la signalisation. Par exemple, après liaison du ligand, le récepteur du PDGF peut se mouvoir dans la cavéole, s'autophosphoryler et déclencher en aval des événements de signalisation. Les niveaux du cholestérol libre dans les cavéoles baissent, favorisant ainsi l'exclusion des récepteurs PDGF des cavéoles et l'*internalisation* du cholestérol par les *puits hérissés*.

Après l'exclusion de récepteur PDGF, le contenu en cholestérol des cavéoles augmente à nouveau.

D. Macropinocytose

1. Définition

La macropinocytose est une endocytose de solutés (molécules en solution), qui aboutit à la formation des macropinosomes, vacuoles non revêtues de clathrine, d'un diamètre compris entre 0,5 et 200 nm.

2. Formation des macropinosomes

Les macropinosomes se forment en réponse à des facteurs de croissance et à des esters de phorbol (agents chimiques carcinogènes, activateurs de la PKC). Leur formation s'accompagne (mais pas nécessairement) d'expansions ondulantes temporaires qui, au moment de la macropinocytose, entourent les solutés extracellulaires à internaliser.

3. Propriétés

Les macropinosomes sont réfractaires à la fusion avec les endosomes précoces : les macropinosomes ne délivrent qu'une infime partie de leur contenu aux endosomes précoces ou tardifs. La bréfeldine A n'induit pas le mélange des contenus des macropinosomes et des endosomes ; de plus, elle n'altère pas, ou presque pas, la morphologie des macropinosomes, tandis que dans les mêmes cellules, elle produit des effets dramatiques de tubulation sur les endosomes. Bien que réfractaires à la fusion avec les endosomes, les macropinosomes, structures dynamiques, prennent parfois une morphologie tubulovésiculaire et fusionnent les uns avec les autres. Les différents mécanismes d'endocytose pourraient donner des populations endosomales distinctes.

4. Fonctions

Ce mode d'endocytose intervient dans :

- la capture du colloïde par les cellules folliculaires qui tapissent les follicules thyroïdiens contenant de la thyroglobuline ;
- la capture et l'endocytose des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I et de classe II ;
- la pénétration intracellulaire de certaines toxines bactériennes (tétanique et cholérique) et végétale (ricine) ;

Hidden page

sation des microtubules par le nocodazole ne bloque pas la transcytose induite par l'activation de FcR, qui assure le transport de vésicules de la membrane apicale à la membrane basolatérale. En revanche, elle bloque la transcytose provoquée par l'activation de pIg-R par IgA qui s'effectue en sens opposé.

4. Mécanisme de la transcytose

Dans les cellules polarisées, par exemple dans les *entérocytes*, le point de départ de la transcytose peut être soit la membrane apicale, soit la membrane basolatérale. Prenons l'exemple simple de l'absorption intestinale des anticorps apportés par le lait maternel au nouveau-né. L'acidité du contenu de la cavité intestinale facilite la fixation des anticorps du lait sur des récepteurs situés dans la membrane plasmique apicale. Les complexes anticorps-récepteurs sont internalisés par des vésicules à clathrine. Ces vésicules fusionnent, après élimination du manteau de clathrine, avec les endosomes de recyclage (voir « Les endosomes », *infra*). Les complexes anticorps/récepteurs ne subissent aucune modification. Ils pénètrent dans les vésicules de transport en cours de formation par bourgeonnement de la membrane des endosomes précoces. Les vésicules de transport fusionnent avec la membrane plasmique du domaine basolatéral plasmique : la membrane des vésicules est intégrée dans la membrane plasmique avec les complexes qu'elle porte. Les anticorps se détachent alors des récepteurs et sont ainsi libérés dans le milieu intercellulaire.

POINTS CLÉS

- L'endocytose (pinocytose, phagocytose) correspond à l'internalisation de la membrane plasmique sous la forme de vésicules qui transportent du matériel d'origine extracellulaire.
- La *phagocytose*, endocytose de particules solides ou de germes, intéresse principalement les cellules intervenant dans la défense de l'organisme. Les germes sont phagocytés après une suite d'événements qui sont l'opsonisation, le chimiotactisme, le contact, la reconnaissance et la phase rhéologique.
- La *pinocytose* capture des macromolécules ou des solutés. Les vésicules d'endocytose à membrane lisse effectuent des transports non spécifiques, les vésicules à clathrine des transports spécifiques (endocytose spécifique). Une GTPase, la dynamine, est nécessaire à la fermeture des vésicules à clathrine. Le déplacement des vésicules dépend de MT et d'une protéine motrice CLIP170. Les vésicules à manteau perdent leur revêtement grâce aux protéines de la famille Hsp. Les deux types de vésicules se transforment en endosomes précoces. L'endocytose de rafts aboutit à la formation de cavéoles dont la totalité de la membrane est constituée par un DIG qui contient une protéine, la cavéoline, des pompes à protons, des canaux ioniques Ca^{++} , des molécules intervenant dans la transduction des signaux. La macropinocytose, endocytose de solutés, aboutit à la formation de macropinosomes, vésicules non revêtues de clathrine qui ne fusionnent pas avec les endosomes.
- La *transcytose* transporte des molécules dans des vésicules lisses à travers la cellule, d'un milieu à un autre. Elle est déclenchée par des signaux. Des protéines TAPs de la membrane des vésicules assurent la fusion de ces vésicules avec le compartiment cible.

II. Les endosomes

Les endosomes sont des organites n'existant que dans les *cellules eucaryotes* : ils sont limités par une membrane provenant de la membrane plasmique. Ils interviennent dans le transport des molécules

internalisées par endocytose (vésicules clathrine-dépendantes ou non) afin de les transférer aux lysosomes où elles seront lysées.

Ce compartiment endosomal comprend :

- les endosomes *précoces* (ou primaires) qui trient et recyclent les récepteurs reçus par endocytose : le tri et le recyclage ont lieu en fonction des auteurs dans des régions différentes de l'endosome précoce. Pour quelques auteurs, le recyclage se ferait dans un compartiment intermédiaire, appelé endosome de recyclage, situé sur la voie endocytaire après les endosomes précoces, qui effectuerait le tri ;
- les *corps multivésiculaires* qui transportent les molécules non recyclées : ils sont considérés, par de nombreux auteurs, comme le résultat d'une évolution morphologique et fonctionnelle progressive d'une partie d'un endosome qui se transforme en un endosome tardif ;
- les endosomes *tardifs* (ou secondaires) qui se transforment en lysosome par un apport croissant d'enzymes lysosomales. Ils fusionnent avec les lysosomes.

A. Distribution et organisation des endosomes

Il est relativement facile d'observer, en microscopie électronique, la complexité du compartiment des endosomes en utilisant une enzyme, la *peroxydase*. En effet, cette molécule, qui pénètre dans la cellule par endocytose, peut être facilement décelée par une réaction histochemique qui forme un précipité opaque au rayonnement électronique, donc visible en MET. Des cellules en culture sont placées en contact avec une solution de peroxydase pendant des durées de plus en plus longues, puis retirées et placées dans un milieu ne contenant pas de peroxydase. La détection histochemique de la molécule permet de voir sa distribution qui correspond à celle des endosomes. Après 1 min, la molécule apparaît au voisinage de la membrane plasmique dans les endosomes précoces. Après 5 à 15 min, elle est située dans les endosomes tardifs, proches de l'appareil de Golgi et près du noyau.

Les endosomes précoces et tardifs se distinguent en fonction de leur *localisation* et de leurs *propriétés*.

Les endosomes précoces sont généralement localisés à la périphérie de la cellule, tandis que les endosomes tardifs sont proches du noyau.

Leur *pH* et leur contenu enzymatique sont *différents*, ainsi que leur *densité* : cela permet de les isoler dans des fractions différentes au cours d'une ultracentrifugation en gradient de densité.

B. Endosomes précoces (ou primaires)

Les protéines et les autres macromolécules extracellulaires sont internalisées par endocytose. Les vésicules d'endocytose, appartenant soit à la voie dépendante de la clathrine/AP, soit à la voie indépendante de la clathrine, les vésicules de transcytose, les cavéosomes, délivrent leur contenu à un endosome précoce.

Les endosomes précoces sont le siège d'une *maturation* des constituants importés. La maturation implique le tri, l'*enlèvement des résidus*, le *recyclage des récepteurs de surface* et l'*involution* (mouvement de ce qui se replie à l'intérieur) de la membrane pour former les corps multivésiculaires.

■ Les vésicules d'endocytose, après avoir perdu leur revêtement de clathrine/AP2 immédiatement après leur internalisation, sont parfois désignées par les termes d'endosomes précoces. Il en est de même pour toutes les autres vésicules provenant de l'endocytose. Ces endosomes précoces fusionnent les uns avec les autres et forment des structures plus volumineuses désignées également par les termes d'endosomes précoces. Il semble préférable de continuer à distinguer les vésicules d'endocytose des endosomes précoces.

1. Définition et structure

Un endosome précoce est un organeite, limité par une membrane, qui possède plusieurs régions : l'une qui trie les molécules et une autre qui les recycle.

Un endosome précoce possède des *régions tubulovésiculaires* et des régions en forme de citerne typique. Les *régions vésiculaires* ont un diamètre de 0,3 à 0,4 μm : il s'en échappe des tubules étroits de 50 à 60 nm (fig. 15.14).

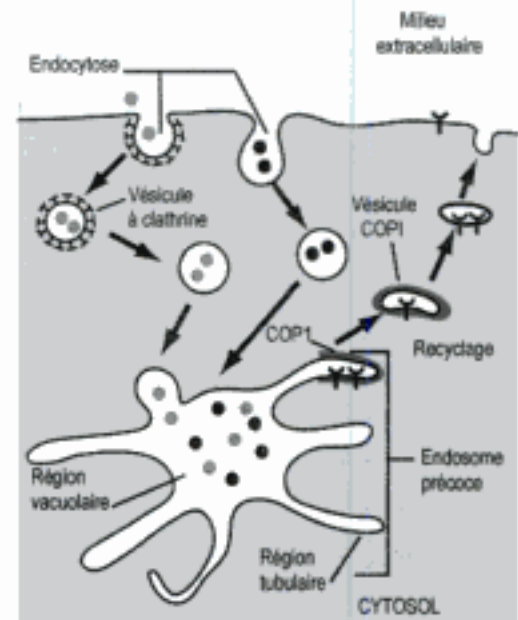


Fig. 15.14

Endosome précoce.

Le tri se déroule dans la région vacuolaire (ou citerne) et le recyclage dans les régions tubulaires.

2. Cîternes de tri

a. Dissociation ligand/récepteur

Le tri s'effectue dans les *cîternes des endosomes précoces* (le plus souvent désignés par les termes d'*endosomes de tri*). Le contenu de ces cîternes subit un *début d'acidification* (pH compris entre 6 et 6,5) grâce à des *pompes H^+ -ATPase* situées dans la membrane. Cette acidification provoque la dissociation ligand/récepteurs de la plupart des ligands protéiques, y compris des LDL. Le pH légèrement acide de l'endosome précoce modifie la conformation des récepteurs qui libèrent leur ligand (*tous les récepteurs ne libèrent pas leur ligand*). De nombreuses molécules capturées par les endosome précoces sont délivrées aux lysosomes *via* les endosomes tardifs. De nombreuses molécules « endocytées » retournent à la membrane plasmique (recyclage) pour être réutilisées. Des molécules recapturées à partir des endosomes tardifs retournent à l'appareil de Golgi.

b. Mécanisme de tri des récepteurs

Les *récepteurs libérés* de leur ligand s'accumulent dans la membrane des *régions tubulaires étroites* situées dans la région périnucléaire de l'appareil de Golgi.

Il semblerait que la *morphologie et le pH bas de ces organites* réalisent un mécanisme simple et élégant de tri, basé sur la géométrie de ces organites et le flux massif des composants moléculaires. En l'absence de toute autre information de tri, les récepteurs (et les protéines qui leurs sont liées) ancrés dans la membrane suivraient le flux membranaire, probablement par l'intermédiaire de la vésiculation et des tubules qui ont un diamètre très étroit : les molécules volumineuses restent dans les vésicules, tandis que les autres peuvent passer dans les étroits tubules.

L'expérience suivante est en faveur de cette hypothèse. L'incubation de cellules avec des LDL fluorescents montre que la quantité de LDL dans la citerne endosomale s'accroît de 30 à 40 fois par période de 10 min. En revanche, l'accumulation de transferrine est seulement multipliée par trois : un seuil d'équilibre est atteint en 2 à 3 min. La transferrine abandonne les citernes après 1,5 à 3 min. Ces résultats indiquent que les LDL, qui sont de grosses molécules, s'accumulent dans les vésicules ou les vacuoles des endosomes précoces, tandis que les petites molécules (la transferrine) gagnent les tubules.

Le tri du récepteur EGF-R du facteur de croissance EGF dépend de l'existence d'un domaine tyrosine kinase, situé sur le domaine cytosolique du récepteur. L'analyse de l'endocytose de ce facteur (type sauvage) et d'un mutant dépourvu de ce domaine tyrosine kinase dans une souche de fibroblastes murins NIH 3T3 (*National Institute of Health* ; Institut national de la santé) montre que l'internalisation se déroule de la même manière pour les deux molécules, mais que 20 min après l'internalisation, les chemins suivis divergent. Le type sauvage se localise dans les vésicules internes des MVB (*Multivesicular Body* ; corps multivésiculaire) alors que le mutant tyrosine kinase négatif est retrouvé dans les formations tubulaires.

3. Tubules de recyclage (ou endosome de recyclage)

La plupart des récepteurs de la surface cellulaire sont recyclés par les tubules.

a. Structure des régions chargées du recyclage

Rappelons que les régions de l'endosome précoce, où s'effectue le recyclage, sont organisées en tubules interconnectés en un réseau. Dans de nombreuses cellules, la distribution, la morphologie de ces tubules sont similaires à ceux du TGN : toutefois, ces compartiments sont séparés les uns des autres.

Le pH est de 5,9-6 : il diffère légèrement de celui des citernes de tri. Un tel pH permet au ligand de se libérer de son récepteur et conserve au récepteur ses propriétés.

La différence de pH et de forme avec les régions endosomales où s'effectue le tri suggère que ces tubules constitueraient un compartiment différent qualifié d'*endosome de tri* ou de *compartiment intermédiaire*.

b. Recyclage des récepteurs

Les récepteurs intramembranaires se réunissent dans la région tubulaire de l'endosome précoce. Cette région bourgeonne, forme une vésicule qui se déplace en direction de la membrane plasmique et fusionne avec elle. Les récepteurs ont ainsi regagné leur place et peuvent être réutilisés pour

permettre l'internalisation de ligands. Un tel mécanisme de recyclage peut être mis en évidence en utilisant des anticorps marqués à la ferritine. Les récepteurs qui ont fixé la ferritine (opaque au rayonnement électronique) sont visibles en MET et il est possible de les suivre facilement.

Le devenir des récepteurs varie en fonction des cellules. Ils peuvent être dégradés, recyclés ou déplacés :

- vers l'*appareil de Golgi* : dans ce dernier cas, les récepteurs sont insérés dans la membrane du TGN pour être recyclés en direction de la membrane par les vacuoles d'exocytose ou les grains de sécrétion ;
- vers la *membrane plasmique* : ce recyclage dépend de protéines spécialisées : les protéines *RME/EHD* (*RME* : *Receptor-Mediated Endocytosis* ; endocytose médiée par un récepteur). La protéine *RME-1* contrôle le recyclage en direction de la membrane plasmique, des protéines. Ces protéines possèdent trois domaines : un domaine aminoterminal de liaison en forme de boucle P qui peut se lier à l'ATP ou à GTP, une région centrale EH (*Eps Homology* ; homologue d'Eps) formant un domaine superenroulé et un domaine carboxyterminal qui possède des homologies avec une protéine intervenant dans l'endocytose, *Eps15* (*Endocytosis protein* ; protéine de l'endocytose). *RME-1* est une protéine cytosolique qui existe également dans la membrane du tubule. C'est la boucle P qui contrôle l'association de cette molécule avec la membrane de ERC.

c. Recyclage de la membrane des vésicules

Le compartiment endosomal est capable recycler la membrane des vésicules.

Par exemple, les *fibres nerveuses* transmettent leur influx nerveux par l'intermédiaire de leur terminaison qui affecte souvent la forme d'un bouton terminal. Les *substances neurotransmettrices* comme la noradrénaline, l'acétylcholine sont contenues dans des vésicules de petites dimensions qui portent le nom de *vésicules synaptiques*. Lorsque la fibre nerveuse est excitée, les vésicules synaptiques libèrent le neurotransmetteur dans l'espace (fente synaptique) qui la sépare de l'organe innervé. La *membrane des vésicules synaptiques*, dont le contenu a été déversé dans la fente synaptique, s'incorpore dans la membrane du bouton terminal (membrane présynaptique). Cette membrane des vésicules synaptiques est récupérée par la cellule sous la forme d'une *vésicule d'endocytose* qui fusionne avec l'*endosome précoce*. Elle sera réutilisée pour la formation de nouvelles vésicules synaptiques. Le neurotransmetteur est synthétisé par les polyribosomes libres dans le cytosol. La membrane du compartiment endosomal précoce bourgeonne, forme de nouvelles vésicules dans lesquelles le neurotransmetteur pénètre.

4. Biogenèse des endosomes précoces

Les *vésicules d'endocytose*, après internalisation, perte éventuelle de leur manteau de clathrine, constitueraient par fusion les unes avec les autres les endosomes précoces. Les *vésicules de transport non recouvertes* fusionnent aussi avec les endosomes précoces.

L'arrimage et la fusion des *vésicules d'endocytose* se fait grâce à la présence, dans leur membrane et aussi dans le cytosol, de molécules (voir chapitre 14, p. 386) qui n'ont pas encore toutes été identifiées.

Le tri et le recyclage se font-ils dans le même endosome précoce ?

- Plusieurs observations semblent démontrer que les endosomes de tri et de recyclage sont des organites différents :
 - la localisation du tri et du recyclage diffère : le tri et le recyclage se déroulent dans des régions différentes de la cellule ;
 - les tubules endosomaux de recyclage contiennent de la transferrine et jamais de LDL ou d'autres ligands qui sont délivrés aux lysosomes après endocytose ;
 - il n'existe pas de connexions visibles entre les endosomes de tri (marqués par LDL et par la transferrine) et les endosomes de recyclage, marqués seulement par la transferrine.
- De plus, dans les cellules CHO (*Chinese Hamster Ovary* ; ovaire de hamster chinois), les régions de recyclage ont un pH plus alcalin, de 0,3 à 0,4 unité de plus que les régions de tri. Bien que les différences dans la distribution, le pH et le cargo (substance transportée), trouvées entre les deux composants des endosomes précoces, soient claires, les différences, dans la constitution protéique membranaire, ne sont pas bien connues. De récentes études suggèrent que Rab4 (*Ras-bovine* ; Ras extrait du cerveau de bovin) est plus abondant dans la membrane des citernes de tri que dans les tubules de recyclage.
- Si le tri et le recyclage se déroulent dans des endosomes précoces différents, le transport entre ces endosomes de tri et de recyclage ne pourrait se faire que par des vésicules de transport dont l'existence n'a pas encore été démontrée.

Lorsque l'*amarrage* est réalisé, une paire de protéines membranaires, les *cis-SNARE*, (une Q-SNARE et une R-SNARE) agissent juste avant la fusion. Si les vésicules ont été correctement arrimées, les *cis-SNARE* de la membrane d'une vésicule peuvent interagir avec les *cis-SNARE* de la membrane de l'autre vésicule. La fusion des vésicules dont le mécanisme n'est pas connu succède à l'arrimage.

5. Rôle des microtubules dans l'organisation spatiale des endosomes précoces

Ce rôle a été mis en évidence grâce à la bréfeldine (*BFA*). La *BFA* bloque l'échange entre GDP et GTP sur les tubulines, échange qui est nécessaire à la polymérisation et à la dépolymérisation des microtubules. Une courte exposition à la *BFA* provoque une fusion extensive et une formation de tubules à partir des endosomes précoces en direction de la périphérie cellulaire ; en revanche, au cours d'une exposition prolongée (30 min et plus), les endosomes précoces subissent une rétraction en direction de la région centrosomale : cette rétraction est réversible et dépendante des microtubules.

6. Rôle des endosomes dans la défense de l'organisme

Dans les cellules présentatrices d'antigène, les antigènes capturés par ces cellules sont placés à la surface de la membrane cellulaire grâce à un mécanisme relativement complexe.

Les antigènes étrangers ont pénétré soit par endocytose, soit par phagocytose dans les endosomes où ils subissent une hydrolyse partielle. En présence de peptides étrangers, ces cellules synthétisent, dans le réticulum endoplasmique granulaire, un complexe majeur d'histocompatibi-

Mécanisme moléculaire de la fusion des vésicules d'endocytose

- Divers facteurs interviennent : des facteurs d'identification comme Rab-5, des facteurs d'amarrage et d'arrimage (rabex-5 ; rabaptine-5 et EEA-1).
- La protéine Rab5-GDP/GTP intervient dans la vectorisation de l'adressage des vacuoles d'endocytose. Sous la forme Rab5-GDP, cette protéine est inactive : lorsqu'elle est activée par échange de GDP en GTP, elle se transforme en Rab5-GTP. L'activation de Rab5-GDP/GTP dépend de la formation d'un complexe stable constitué par rabex-5 (*rab exchange* ; facteur d'échange de rab5 GDP/GTP) et par la rabaptine-5.
- La rabaptine est une molécule superenroulée de 100 kDa, qui joue un rôle important dans le transport des vésicules d'endocytose. Elle a une localisation principalement cytosolique, mais elle occupe aussi une région membranaire dans les vésicules d'endocytose. La rabaptine est un effecteur de Rab5. L'immunosuppression de la rabaptine inhibe la fusion des endosomes précoces dépendant de Rab-5.
- EEA-1 (*Early Endosome Antigen 1* ; antigène 1 des endosomes précoces) est une protéine associée aux endosomes précoces, qui existe également dans la membrane des vésicules d'endocytose. Elle possède un motif de liaison avec la calmoduline, un site d'interaction avec Rab-5 et un domaine FYVE (phénylalanine, tyrosine, valine, acide glutamique) qui se lie sélectivement avec le phosphatidylinositol 3-phosphate. EEA-1 non seulement amarre les endosomes les uns avec les autres, mais permettrait aussi leur fusion.

lité de type II. Comme toutes les protéines synthétisées par le REG, le CMH II gagne l'appareil de Golgi, d'où il est acheminé à partir du *réseau trans-golgien* vers les endosomes par des vésicules golgiennes. Le CMH II forme un complexe avec les peptides à activité antigénique. Ce complexe s'incorpore dans la membrane des endosomes précoces. Les régions membranaires, occupées par le complexe CMH II/antigènes, bourgeonnent pour former des vésicules qui viennent fusionner avec la membrane plasmique, de telle sorte que les antigènes sont exposés à la surface de la cellule. Une telle exposition est essentielle pour la défense de l'organisme : en effet, le peptide est présenté aux lymphocytes T qui induisent la réaction immunologique de l'organisme.

7. Endosomes précoces et transcytose

La *transcytose* est un mécanisme de transport par vésicules, d'une région de la membrane plasmique à une autre région de cette membrane. Ce transport n'est pas direct. Les molécules transportées passent par les endosomes précoces où elles sont recyclées en direction de leur destination.

8. Endosomes précoces et régulation de la glycémie

Le recyclage vers la membrane plasmique peut, dans certains cas, être régulée. Par exemple, les transporteurs du glucose sont stockés dans les endosomes, lorsque le récepteur de l'insuline, une hormone hypoglycémisante, n'est pas stimulé. Lorsque le taux de glucose augmente dans le sang, l'insuline se fixe sur son récepteur, une protéine possédant deux sous-unités transmembranaires (la portion intracytoplasmique contient un domaine à activité tyrosine kinase), et deux sous-unités situées sur la face externe de la membrane qui possèdent chacune un site de fixation de l'insuline.

Hidden page

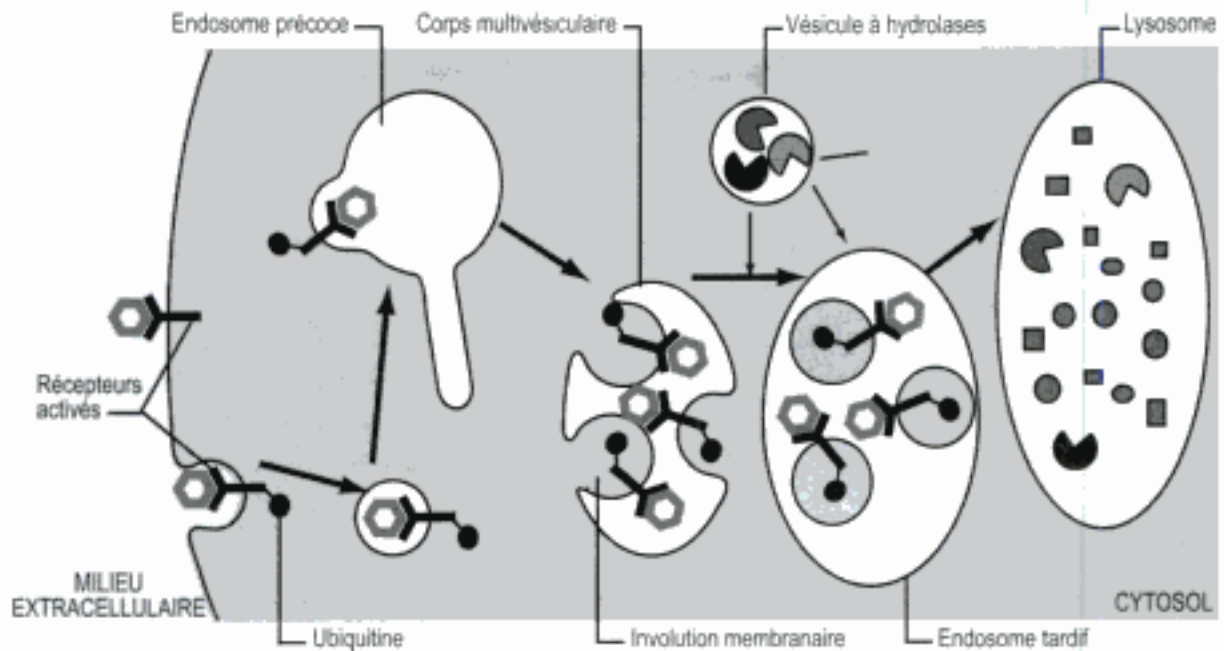


Fig. 15.16

Formation des corps multivésiculaires.

La vésicule à hydrolase perd son manteau de clathrine avant de fusionner avec les corps multivésiculaires : seule la vésicule prête à fusionner a été représentée dans ce schéma.

formation des vésicules : elles s'amarrent sur les têtes phosphorylées du phosphatidylinositol et transforment la membrane, qui contient les patches, en vésicules internes.

Les marqueurs de la membrane plasmique, que ces membranes pourraient contenir, disparaissent ; de plus, les corps multivésiculaires se chargent progressivement en hydrolases lysosomales qui sont apportées par des vésicules issues du TGN : les vésicules à clathrine. Les vésicules à clathrine associée à l'AP1 délivrent leur cargaison de M6P-R et d'hydrolases lysosomales aux endosomes. Les phénomènes de reconnaissance et de fusion entre vésicules à clathrine et endosomes dépendent de la cis-SNARE spécifique des endosomes ainsi que des protéines Rab. Les vésicules perdent leur manteau de clathrine avant de fusionner avec la vacuole en cours de transformation. À ce stade, la vacuole s'est transformée en un endosome tardif.

Il convient cependant de noter que l'on ignore si ces corps multivésiculaires fusionnent avec le compartiment endosomal tardif ou *s'ils fusionnent les uns avec les autres* pour former un compartiment endosomal tardif.

C. Endosomes tardifs**1. Structure et localisation**

Les endosomes tardifs se distribuent autour du noyau. Ils ont une structure réticulovésiculaire. Ils contiennent de grandes quantités de membranes intraluminales : ce sont des corps multivésiculaires. Ils possèdent un contenu dont le pH est compris entre 5 et 5,5, intermédiaire entre celui des endosomes précoces et celui des lysosomes. Ce pH dépend d'une H⁺-ATPase (une pompe à protons vacuolaire comparable à celle des lysosomes).

Les composants de la membrane des endosomes tardifs

► Leur membrane contient :

- une protéine Rab, *Rab7-GTP*, une protéine membranaire de la superfamille ras des petites GTPases : les membres de ce groupe interviennent dans la libération de l'énergie nécessaire au trafic membranaire ; cette molécule constitue aussi un site de reconnaissance pour les vésicules de transport des hydrolases et les vésicules provenant des lysosomes. Enfin, Rab7-GTP est un marqueur des endosomes tardifs ;
- une protéine périphérique, l'*annexine 1*, qui joue un rôle dans les interactions intermembranaires, en particulier au cours de la fusion ;
- une glycoprotéine lysosomale (lgp120 : *lysosomal membrane glycoprotéine* ; glycoprotéine lysosomale membranaire) ;
- l'acide lysobisphosphatidique (LBPA : *lysobisphosphatidic acid*) localisé spécifiquement dans la face luminale des endosomes tardifs et des lysosomes. Ce lipide joue un rôle structural dans la maturation des endosomes tardifs. En raison de sa résistance aux phospholipases, il stabilise les membranes des endosomes tardifs et des lysosomes. Il interviendrait aussi dans le tri des protéines par les endosomes tardifs. Le LBPA règle aussi le transport du cholestérol.

2. Vésicules à hydrolases

Les endosomes tardifs s'enrichissent en hydrolases lysosomales et en membranes lysosomales, par *fusion* avec :

- les vésicules à *clathrine associée à AP1*, qui insèrent ainsi des M6P-R (*Mannose 6-phosphate Receptor* ; récepteurs du mannose 6-phosphate) associés aux enzymes lysosomales dans la membrane des endosomes tardifs. Les hydrolases lysosomales contiennent un radical M6P (mannose 6-phosphate) qui est reconnu par M6P-R. Ce récepteur des hydrolases acides a été localisé dans le TGN, l'appareil de Golgi, la membrane plasmique et les endosomes. Les endosomes tardifs en contiennent la plus grande partie. Les M6P-R sont concentrés dans les membranes intraluminales : ils sont *recyclés vers le TGN* avant que les endosomes tardifs ne fusionnent avec les lysosomes ;
- les vésicules recouvertes par des *complexes AP3* qui reconnaissent un motif dileucine permettant le conditionnement des M6P-R dans des vésicules dépourvues de clathrine qui sont dirigées directement vers des endosomes tardifs ;
- les vésicules recouvertes par des GGA . Ces molécules reconnaissent un agrégat de molécules acides et le motif dileucine sur le M6P-R. Les GGA peuvent fonctionner isolément ou en association avec AP1 pour accroître l'efficacité du tri dans les vésicules à clathrine en cours de formation.

Bien qu'apparentés aux lysosomes, les endosomes tardifs ne sont pas des lysosomes typiques (les lysosomes typiques sont en effet dépourvus de M6P-R). Ils seraient des prélysosomes qui subissent une maturation progressive pour se transformer en lysosomes ou fusionner avec des lysosomes. Dans l'hypothèse développée précédemment, les endosomes tardifs proviennent de la transformation progressive des corps multivésiculaires.

3. Fonctions des endosomes tardifs

a. Recyclage par les endosomes tardifs

Les molécules non recyclées, c'est-à-dire les ligands qui restent associés à leurs récepteurs, gagnent les endosomes tardifs. Par exemple, les *EGF* et leur récepteur *EGF-R* restent associés : ils sont transportés jusqu'aux lysosomes où ils sont dégradés. Les récepteurs du mannose-6-phosphate, qui sont incorporés dans la membrane des corps multivésiculaires, restent liés au mannose 6-phosphate jusque dans les endosomes tardifs avant de se dissocier à un pH plus faible permettant leur recyclage vers le TGN.

■ Une autre hypothèse soutient que les endosomes tardifs sont des endosomes spécialisés qui servent de compartiments intermédiaires dans lesquels les MVB déchargent leur contenu et les enzymes lysosomiales se libèrent des M6P-R.

b. Synthèse des hormones thyroïdiennes

Les cellules thyroïdiennes responsables de la sécrétion des hormones thyroïdiennes, en particulier de la thyroxine, constituent un épithélium autour d'une cavité contenant une substance, la colloïde (fig. 15.17). L'ensemble épithélium/cavité constitue un follicule thyroïdien. Les cellules thyroïdiennes déversent leur produit de sécrétion dans la cavité du follicule sous la forme d'une molécule complexe, la *thyroglobuline*, une protéine d'un poids moléculaire de 650 kDa, qui est une glycoprotéine associée à l'iodotyrosine, l'iodothyronine et l'iodohistidine. Lorsque l'organisme a besoin d'hormones thyroïdiennes, les cellules thyroïdiennes internalisent, par endocytose, des molécules de thyroglobuline.

Des vésicules d'endocytose transportent la thyroglobuline aux endosomes. Dans les endosomes tardifs, des protéases rompent les liens peptidiques qui unissent les hormones thyroïdiennes à la thyroglobuline.

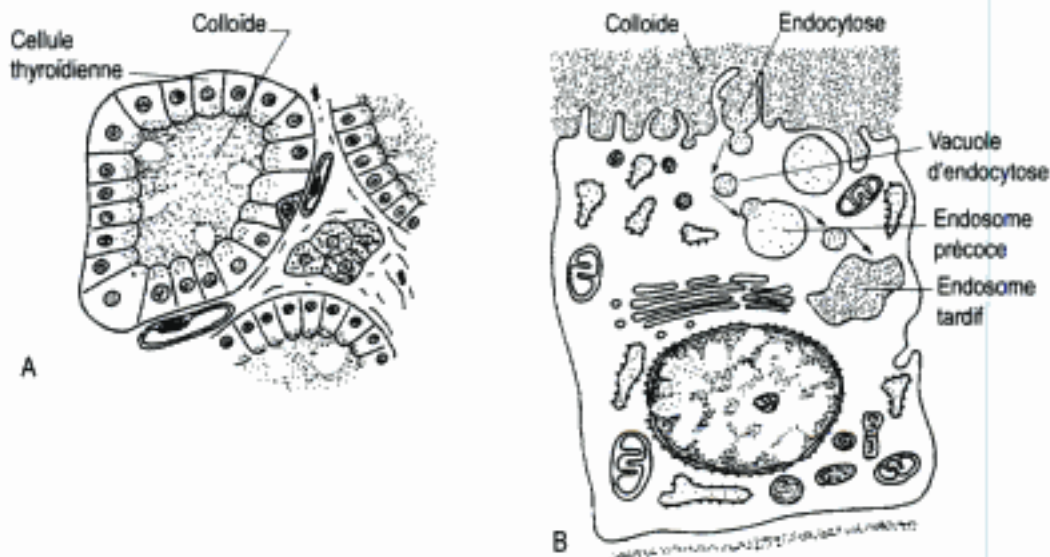


Fig. 15.17

Endosome tardif et synthèse des hormones thyroïdiennes.

A. Vésicule thyroïdienne. B. Cellule thyroïdienne.

La thyroglobuline subit une protéolyse ménagée dans les endosomes : elle libère les hormones thyroïdiennes qui traversent la paroi endosomale grâce à des perméases, et, après avoir traversé le cytosol et la membrane cellulaire, gagnent la circulation sanguine.

c. Régulation de la glycémie

Le taux de glucose dépend, entre autres, d'une hormone, l'insuline. Si le taux d'insuline dans le sang est trop élevé (hyperinsulinémie qui entraîne une hypoglycémie), l'insuline est détruite par les hépatocytes. La membrane plasmique hépatocytaire contient des récepteurs de l'insuline. L'endocytose de l'insuline débute par sa fixation sur les récepteurs : cette fixation provoque une phosphorylation du récepteur. Les récepteurs, associés chacun à deux molécules d'insuline, migrent vers des puits recouverts de clathrine et d'adaptine. La membrane des puits recouverts, qui contient les molécules d'insuline combinées aux sites récepteurs, est internalisée par endocytose. Les vacuoles d'endocytose se déplacent vers les endosomes précoces avec lesquels elles fusionnent. Leur membrane, ainsi que les complexes récepteurs/insuline, sont incorporés dans la membrane des endosomes précoces. Les récepteurs sont recyclés en direction de la membrane plasmique, tandis que l'insuline est transportée vers les endosomes tardifs où elle sera détruite.

d. Endosomes tardifs et infection virale

Le *virus de l'encéphalite* transmise par les tiques est un petit virus à ARN entouré d'une enveloppe : la nucléocapside est formée essentiellement par une glycoprotéine, une protéine E qui est reconnue par des récepteurs de l'individu infecté. Le virus pénètre par endocytose dans les endosomes des cellules hôtes, gagne les *endosomes tardifs* où une hydrolyse libère l'ARN viral sans le détruire. L'ARN traverse alors la membrane endosomale grâce à une perméase et la cellule est infectée. Il serait théoriquement possible d'imiter ce moyen pour introduire des gènes dans des cellules dans un but thérapeutique. C'est malheureusement difficilement réalisable sur un organisme après la naissance, mais envisageable chez l'embryon pour pallier à une anomalie ou à une maladie d'origine génétique.

e. Endosomes tardifs et distribution du cholestérol

Des études récentes démontrent l'existence d'une molécule protéique dénommée *NPC1* (*Niemann Pick type C*) qui est impliquée dans le transport du cholestérol à partir des *endosomes tardifs*. La maladie de *Niemann Pick type C* est provoquée par la mutation d'un gène récessif autosomique qui code pour cette protéine. La mutation de *NPC1* aboutit à une accumulation de cholestérol dans les endosomes tardifs qui se gonflent et se remplissent de membranes disposées en spires. La protéine NPC fonctionne comme une protéine de liaison du cholestérol ou une protéine sensible au cholestérol. Une accumulation de cholestérol dans le compartiment endosomal tardif stimule le transport rétrograde de la protéine NPC, des lysosomes vers les endosomes. En présence de cette protéine, le cholestérol serait trié et distribué aux différentes membranes cellulaires en fonction des besoins.

Hidden page

POINTS CLÉS

- Les endosomes précoces se forment par fusion des vésicules d'endocytose (vésicules recouvertes ayant perdu leur manteau et vésicules de transport non recouvertes). Les corps multivésiculaires et les endosomes tardifs sont vraisemblablement des étapes de l'évolution des endosomes précoces (mais cela est encore l'objet de controverses).
- Les endosomes précoces trient les molécules dans leur région vacuolaire. Le recyclage de certaines molécules (par ex. les récepteurs) en direction de la membrane plasmique se fait grâce à leur région tubulaire. Les protéines non recyclées sont marquées par une molécule d'ubiquitine. Les patches formés par ces molécules sont internalisés dans les endosomes précoces sous la forme de vésicules. Ces corps multivésiculaires fusionnent avec des vésicules à hydrolases et deviennent des endosomes tardifs.
- Les endosomes tardifs interviennent dans le recyclage des molécules non encore recyclées, la régulation de la glycémie, la synthèse des hormones thyroïdiennes, la distribution du cholestérol. Ils fusionnent avec les lysosomes.
- Les endosomes sont un carrefour situé sur la voie de l'endocytose.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. La phagocytose de bactéries

- ☐ A. Les récepteurs du macrophage reconnaissent les composants de la capsule bactérienne.
- ☐ B. Des récepteurs du macrophage reconnaissent les anticorps fixés sur la capsule bactérienne.
- ☐ C. Des récepteurs du macrophage reconnaissent des éléments du complément fixés sur la capsule bactérienne.
- ☐ D. La rencontre du macrophage avec la bactérie est aléatoire.
- ☐ E. N'importe quelle bactérie peut être phagocytée.

2. La clathrine

- ☐ A. Est un complexe moléculaire constitué de chaînes lourdes.
- ☐ B. Est un complexe moléculaire constitué de chaînes lourdes et d'une partie globulaire.
- ☐ C. Est un complexe moléculaire constitué de chaînes lourdes et de trois chaînes légères.
- ☐ D. La clathrine se fixe sur l'adaptine après que celle-ci se soit fixée aux récepteurs.
- ☐ E. C'est l'organisation géométrique de la clathrine qui provoque la fermeture de la vésicule.

3. Les cavéoles

- ☐ A. Correspondent aux invaginations des DIG (*Detergent Insoluble Glycolipid enriched domain* ; domaine enrichi en glycolipide insoluble dans les détergents).
- ☐ B. Une fois formés, ils peuvent fusionner pour donner des cavéosomes.
- ☐ C. Une fois formés, ils peuvent refusionner avec la membrane plasmique.
- ☐ D. Sont dépourvus de récepteurs.
- ☐ E. Ne contiennent que des transporteurs.

4. Les cavéolines

- ☐ A. Possèdent leurs deux extrémités dans le cytosol.
- ☐ B. Constituent une famille complexe, chaque cavéoline est spécifique d'un type cellulaire.
- ☐ C. Forment des agrégats de cinq molécules.
- ☐ D. Font parties des protéines GTPasiques.
- ☐ E. Sont des protéines de 180 kDa.

5. Les endosomes précoces

- ☐ A. On discerne deux zones : celle du tri et celle du recyclage.
- ☐ B. Peuvent servir de réservoir à transporteur.
- ☐ C. Dans les cellules nerveuses les neuromédiateurs peuvent être recyclés en sortant des endosomes.
- ☐ D. Le recyclage des récepteurs peut se faire via le TGN.
- ☐ E. Les vésicules de recyclage ont un manteau de clathrine.

6. Les endosomes tardifs

- ☐ A. Interviennent dans la synthèse d'hormones.
- ☐ B. Interviennent dans le recyclage des LDL.
- ☐ C. La membrane des endosomes contient une ARN polymérase.
- ☐ D. Fusionnent avec les vésicules à hydrolases.
- ☐ E. Commencent la dégradation des molécules.

QROC

1. Qu'appelle-t-on la phagocytose frustrée ?
2. Quelles sont les quatre formes de pinocytose ?
3. Quelle proportion de la surface membranaire représentent les puits recouverts ?
4. Quelle proportion de la surface membranaire représentent les cavéoles dans les cellules endothéliales ?

5. Comment se referment les puits recouverts ?
6. Quelles sont les caractéristiques morphologiques de la macropinocytose ?
7. Quels types de vésicules fusionnent avec l'endosome ?

Pour les corrections, se reporter à la page 587

Ribosomes et réticulum endoplasmique

I. Les ribosomes

II. La protéogenèse

III. Le réticulum endoplasmique

En 1953, Palade découvre les ribosomes, constituants universels des êtres vivants. Leur fonction est découverte un an plus tard : les ribosomes libres synthétisent les protéines cellulaires. Cette découverte révolutionne nos connaissances du fonctionnement cellulaire. Cette synthèse est, en quelque sorte, une fonction d'assimilation qui, au travers de la protéogenèse, permet à la cellule de reconstituer sa propre substance, en synthétisant ces macromolécules caractéristiques (spécifiques) de l'espèce que sont les protéines. La cellule élabore aussi, grâce à l'association ribosome-réticulum endoplasmique (découvert par Porter, Claude et Fulham en 1945), des protéines qu'elle déverse dans le milieu extracellulaire, après un passage par l'appareil de Golgi. En 1966, le décryptage du code génétique est achevé par les laboratoires de Marsh Nirenberg et l'Espagnol Severo Ochoa. Depuis 1998, des études basées sur la cryomicroscopie électronique, sur diffraction de cristaux en rayons X et la résonance magnétique nucléaire nous permettent maintenant d'atteindre une résolution de l'ordre atomique. Ces études démontrent le rôle joué par les ARN ribosomaux dans la formation des liaisons peptidiques et le décodage génétique. Nous sommes à quelques années de la complète compréhension du fonctionnement complexe de ces assemblages moléculaires particulièrement extraordinaires que sont les ribosomes.

I. Les ribosomes

A. Définition

Les ribosomes sont des complexes d'ARN et de protéines qui catalysent l'assemblage des acides aminés dans un ordre, déterminé par les séquences nucléotidiques de l'ARNm (*traduction* de l'ARNm). Ce sont des particules compactes, visibles en ME, dépourvues de membranes, libres dans le cytoplasme ou accolés à la face externe des membranes du réticulum endoplasmique. Ils existent également, dans les mitochondries (mitoribosomes) et dans les chloroplastes (mitochloroplastes).

B. Forme et structure

Les cellules *procaryotes* et *eucaryotes* possèdent toutes des ribosomes, sauf les hématies et les kératinocytes des couches superficielles de l'épiderme. Leur forme est universelle. En coupe longitudinale, ils sont légèrement elliptiques. Ils sont constitués par une *petite sous-unité* et une *grande sous-unité* qui s'associent afin de traduire un ARNm.

Les ribosomes, chez les *procaryotes* et les *eucaryotes*, sont presque semblables : toutefois, le coefficient de sédimentation des ribosomes des *procaryotes* est de 70 S pour le ribosome entier (50 S pour la grande sous-unité, 30 S pour la petite) et de 80 S (60 S pour la grande sous-unité, 40 S pour la petite) chez les *eucaryotes*. Ces complexes moléculaires se dissocient, en leurs deux sous-unités, lorsqu'ils ont fini de traduire toutes les informations portées par l'ARNm, c'est-à-dire à la terminaison de la biosynthèse des chaînes polypeptidiques.

La lettre S signifie unité Svedberg. Les unités Svedberg ne sont pas additives – l'addition de deux sous-unités ne donne pas la valeur du ribosome entier.

1. Grande sous-unité

Chez la bactérie *Escherichia coli*, la grande sous-unité (20 nm de largeur, 22 nm de hauteur et 15 nm d'épaisseur) a la forme d'un fauteuil elle possède trois bras (digitations ou protubérances) : un bras correspond au dossier et les deux autres bras, moins épais, aux accoudoirs (fig. 16.1).

Elle est perforée de deux canaux, dont un seul paraît complet. Il fait communiquer la portion du siège du fauteuil, située en avant du dos et

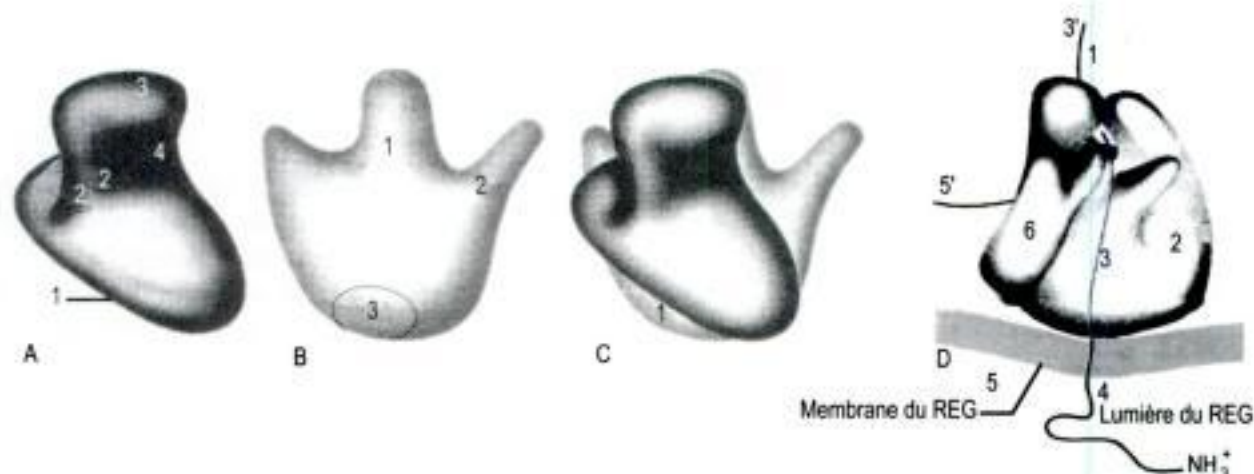


Fig. 16.1

Structure du ribosome.

A. Petite sous-unité. 1. Plate-forme ou plateau. 2. Les chiffres 2 indiquent les sites amino-acyl et peptidique situés dans le sillon limité par la plate-forme et le tiers supérieur de la petite sous-unité. 3. Tête. 4. Cou.

B. Grande sous-unité. 1. Peptidyl transférase. 2. GTPase. 3. Site de sortie de la molécule protéique.

C. Ribosome : disposition des deux sous-unités. 1. Site de sortie.

D. Ribosome traduisant un ARNm. 1. ARNm. 2. Grande sous-unité. 3. Segment protéique néosynthétisé situé dans le tunnel de la grande sous-unité. Il comprend 35 acides aminés. 4. Extrémité aminoterminal de la protéine en cours de synthèse. 5. Membrane du REG.

6. Petite sous-unité.

Stryer L. *La biochimie*. Flammarion Médecine-Sciences.

entre les accoudoirs, avec la face dorsale de la grande sous-unité. C'est ce *tunnel* qui est emprunté par la protéine néosynthétisée.

2. Petite sous-unité

La petite sous-unité est allongée, ellipsoïde : elle mesure 5,5 nm de largeur sur 20 nm d'épaisseur. Elle est subdivisée en quatre domaines, la tête, le corps, le plateau ou plate-forme et un domaine formé par une longue hélice située à l'interface avec la sous-unité 50 S.

Elle se loge dans la concavité supérieure de la grande sous-unité.

C. Constitution et organisation moléculaire

Les ribosomes sont une association d'acides nucléiques et de protéines.

1. ARN ribosomaux

Les ribosomes contiennent environ 60 % d'ARNr. Le fractionnement des ARNr a été obtenu par électrophorèse et par chromatographie sur colonne.

Dans les cellules *procaryotes*, la *grande sous-unité* contient deux ARNr différents : un ARN 5 S de 120 bases et un ARNr 23 S de 2 904 bases. La petite sous-unité renferme un ARNr 16 S de 1 590 bases.

Dans les cellules *eucaryotes*, la *grande sous-unité* contient trois ARNr différents : un ARNr 28 S, un ARNr 5,8 S, un ARNr 5 S. La petite sous-unité renferme un ARNr 18 S. Le précurseur, l'ARN 45 S, est transcrit par l'ADN nucléolaire puis découpé (*processing*) en ARNr 5,8 S, 18 S et 28 S. L'ARNr 5 S est transcrit de l'ADN nucléaire. Les 4 ARNr s'associent aux protéines ribosomales dans le noyau. Les protéines ribosomales sont synthétisées dans le cytoplasme grâce à l'ARNm qui transporte l'information contenue par l'ADN nucléaire.

2. Protéines ribosomales

Les protéines des ribosomes furent isolées par électrophorèse bidimensionnelle. Elles sont généralement basiques et de petite taille (10-30 kDa). Les ribosomes contiennent de très nombreuses molécules : les *protéines S (short)* de la petite sous-unité et les *protéines L* de la grande sous-unité. Les ribosomes *procaryotes* et *eucaryotes* diffèrent par leur composition protéique. Chez les *procaryotes*, la petite sous-unité contient 21 protéines et la grande sous-unité 31 : chez les *eucaryotes*, la petite sous-unité contient 33 protéines et la grande sous-unité 49. Chez les *procaryotes*, les protéines ribosomales sont uniques à l'exception de L7 et L12 et de L26 et S20.

3. Rapport protéines – ARNr

Les recherches sur le ribosome, en utilisant la *résonance magnétique*, la *cryomicroscopie électronique* et la *diffraction de cristaux aux rayons X*, permettent d'obtenir une résolution à l'échelle atomique. Ces recherches s'intéressent essentiellement au ribosome bactérien. Elles démontrent que les ARN du ribosome jouent un rôle essentiel dans :

- le décodage du code génétique ;

Hidden page

Hidden page

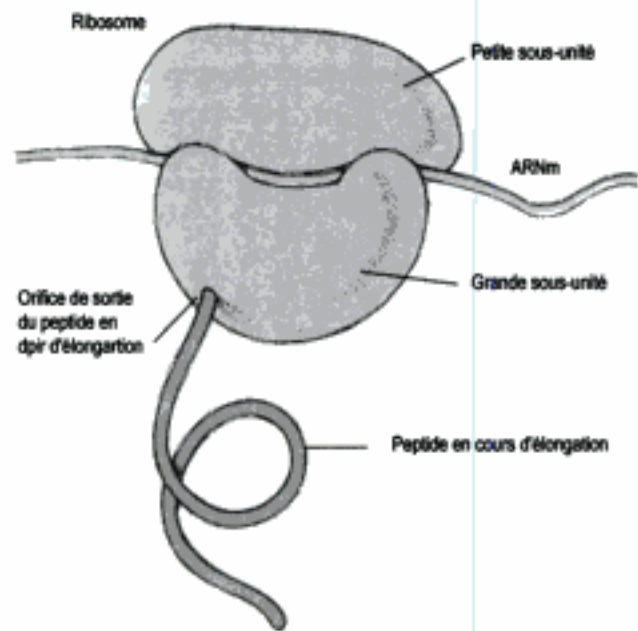


Fig. 16.3

Représentation schématique d'un ribosome en cours de traduction d'un ARNm.

Duve C. *Une visite guidée de la cellule*. Belin.

E. Reconstruction spontanée des ribosomes

La structure des diverses protéines qui constituent les ribosomes est connue : il est possible de reconstituer un ribosome en associant les protéines et les ARNr. Il ne semble pas que l'assemblage des protéines soit spontané : il dépendrait plutôt d'un agencement programmé. Chez les *procaryotes*, en utilisant, *in vitro*, des éléments purifiés, la reconstruction spontanée des ribosomes est possible : elle est beaucoup plus lente (2 heures à 50 °C) que lorsqu'elle est réalisée dans la bactérie elle-même (quelques minutes à 10 °C). Des molécules actuellement inconnues interviennent certainement. Chez les *eucaryotes*, le ribosome mature ne possède pas les informations nécessaires à sa reconstruction spontanée.

II. La protéogenèse

A. Définition

La protéogenèse est la synthèse des protéines qui implique :

- la copie d'un gène sous la forme d'un ARN messager (transcription) ;
- l'épissage de l'ARNm qui élimine les introns ;
- le passage de l'ARNm par les pores nucléaires (chez les eucaryotes) ;
- le transport de l'ARNm dans une région où la protéine qu'il code est utilisée ;
- la lecture de l'ARNm (traduction) par les ribosomes libres (pour la protéine néosynthétisée destinée à la cellule) ou par le réticulum endoplasmique granulaire (pour la protéine destinée à être excrétée).

Chez les *procaryotes*, la traduction est *cotranscriptionnelle*, ce qui n'est pas le cas chez les eucaryotes.

B. Schéma général de la synthèse protéique

L'ARNm est porteur des informations nécessaires à la mise en place des acides aminés en position correcte dans l'enchaînement polypeptidique.

1. Sens de la synthèse des protéines

Les protéines sont synthétisées de l'extrémité aminoterminal à l'extrémité carboxyterminale. L'extrémité *aminoterminal* est donc synthétisée la première. Ceci a été mis en évidence par les techniques de marquage pulsé, pratiqué sur des *réticulocytes* (hématies jeunes qui synthétisent activement l'hémoglobine). Des prélèvements d'hémoglobine, appartenant à des *réticulocytes* mis en présence de leucine marquée, montrent que les extrémités aminoterminales contiennent plus de molécules de leucine marquée que les extrémités carboxyterminales.

2. Transcription

La transcription est la production d'une molécule d'ARN messenger par l'ARN polymérase à partir d'une matrice d'ADN. Elle produit un ARN simple brin dont la structure est complémentaire de la matrice d'ADN.

L'ARN messenger transmet l'information au ribosome et dirige la synthèse des protéines au cours d'un processus appelé *traduction*. Cette information est une succession de groupements de trois bases (codons) complémentaires des trios de bases de l'ADN. Ce sont les codes de traduction. D'autres codons spécifiques indiqueront le début et la fin de la traduction. L'ARN de transfert contient une séquence de trois bases (l'anticodon) qui reconnaît les codons de l'ARN messenger. Il se fixe un court instant sur le codon correspondant, délivre l'acide aminé dont il est le porteur et laisse la place au suivant.

► Le *code génétique* est constitué par des triplets (ou *codons*), groupes de trois bases prises parmi les quatre de l'ADN. Chaque codon désigne un acide aminé. Ces codons se succèdent tout au long du brin d'ADN. La disposition des codons de l'ARNm permet l'assemblage des acides aminés dans un ordre déterminé.

► La *traduction* se fait grâce à une machinerie capable de lire la molécule d'ARNm et d'associer les acides aminés les uns aux autres. Cette machinerie nécessite la présence de molécules d'ARNt qui transportent, sous la forme d'aminoacyl-ARNt, les acides aminés vers la molécule d'ARNm. Cette rencontre, entre acides aminés, ARNt et ARNm, a lieu au sein du ribosome.

C. Mécanisme de la traduction

1. Définition

La traduction est la deuxième étape (après la transcription) de la synthèse des protéines au cours de laquelle l'ARNt se fixe à l'ARNm pour traduire les bases en acides aminés dans les ribosomes. Les molécules d'ARNt apportent les acides aminés spécifiés que le ribosome relie les uns aux autres pour former une protéine.

Ce mécanisme de traduction se divise en *trois phases* : l'*initiation*, l'*élongation* et la *termination*. Chacune de ces phases est GTPases-dépendante. Chacune de ces phases se déroule avec une précision remarquable quand on sait qu'un ribosome bactérien synthétise 17 *liaisons peptidiques* par seconde.

2. Initiation

a. Reconnaissance de l'ARNm

Chez les *eucaryotes*, l'extrémité 5' est porteuse d'une coiffe CBP (*Cap Binding Protein* ; protéine de liaison de la coiffe) de molécules de méthyl-guanosine. La petite sous-unité reconnaît la coiffe, puis se déplace le long de la molécule d'ARNm jusqu'à la séquence 5'-CCACCAUGC-3' qui contient AUG.

La traduction du message transporté par l'ARNm débute au niveau du codon d'initiation AUG.

Chez les *procaryotes*, les ARNm possèdent tous une séquence (Shine-Dalgarno) 5'-CCUCCU-3' qui est complémentaire de la séquence 3'-GGAGGA-5' qui assure sa reconnaissance.

Au cours de la phase d'initiation, des facteurs d'initiation contenant de l'hélicase reconnaissent l'extrémité 5' de la molécule d'ARNm, se fixent à cette extrémité et déroulent l'ARNm dans cette région.

L'exposé se limitera à la traduction de l'ARNm chez les *eucaryotes*.

b. Formation du complexe d'initiation

L'initiation de la synthèse des protéines nécessite la présence de :

- la petite sous-unité 40 S ;
- l'ARNt initiateur qui apporte l'acide aminé terminal sous la forme lié à l'ARNt (metARNt) ;
- l'ARNm ;
- la présence d'un groupe complexe de protéines, les facteurs d'initiation, qui ne participe qu'à cette phase de la synthèse d'une protéine.

Cette phase d'initiation se termine par l'association de la grande sous-unité avec la petite sous-unité, aboutissant ainsi à la formation d'un *complexe complet d'initiation*.

Le nombre de facteurs d'initiation est important : certains d'entre eux se lient à la petite sous-unité au cours de l'initiation.

► 1^{er} stade de l'initiation

eIF2 se lie à GTP.

Un ARNt initiateur porteur d'une molécule de Met-ARNt^{met} est reconnu par eIF2 (fig. 16.4).

► 2^e stade de l'initiation

Il nécessite la présence de la petite sous-unité 40 S qui est associée à eIF3 désignée par les termes de facteur d'antiassociation. La protéine eIF3, formée par une dizaine de polypeptides est localisée sur la face de la petite sous-unité qui entre en contact avec la grande sous-unité, bloquant ainsi physiquement la fixation de la petite sous-unité sur la grande sous-unité.

Un complexe regroupant eIF2- Met-ARNt^{met}-GTP se forme. Ce complexe est capable de se lier à l'ARNm pour former un complexe de *pré-initiation* : la formation de ce complexe de pré-initiation dépend de la présence de CBP, de eIF4a et eIF4b qui permettent de fixer l'ARNm sur la petite sous-unité.

■ La méthionine, dont le code génétique est le codon AUG, a ceci de particulier : il est l'unique codon pour la méthionine.

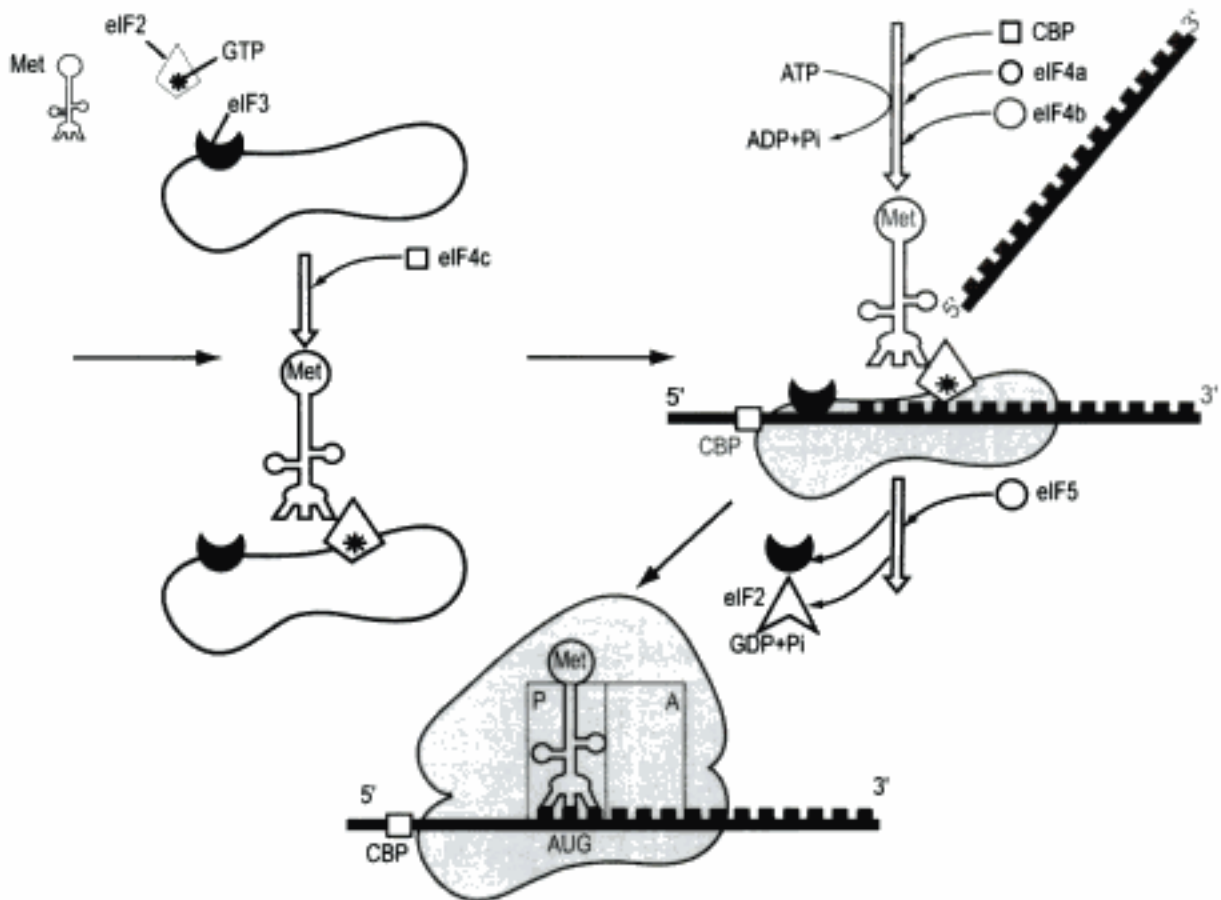


Fig. 16.4

Phase d'initiation de la traduction de l'ARNm.

Chez les eucaryotes, le complexe de pré-initiation est formé en l'absence de l'ARNm. Il comprend eIF2 et l'ARNt initiateur porteur d'une molécule de Met-ARNt^{met} (la méthionine liée à l'ARNt s'associe à la petite sous-unité). L'ARNm (associé à CBP, eIF4A et eIF4B) est abordé par le complexe de pré-initiation à partir de la coiffe en 5'.

Redessiné d'après Thomas M. Delvin, *Textbook of biochemistry*.

L'hydrolyse de l'ATP est essentielle : elle fournit l'énergie nécessaire au déplacement de la petite sous-unité le long de la molécule d'ARNm afin de trouver le codon de départ de la lecture AUG ; l'unité 40 S se déplace d'environ une centaine de nucléotides avant de découvrir le premier AUG. Généralement, le premier AUG découvert permet le démarrage de la traduction de l'ARNm.

Finalement le *complexe de pré-initiation* est formé : il contient eIF2- Met-ARNt^{met}-GTP, l'ARNm bien orienté et plusieurs facteurs protéiques.

c. Fixation de la grosse sous-unité

Un autre facteur d'initiation eIF5 interagit avec le complexe de pré-initiation GTP qui est hydrolysé en GDP et Pi ; eIF2-GDP et eIF3 sont alors libérés de la petite sous-unité. Le complexe de pré-initiation peut alors s'associer à la grosse sous-unité pour former le ribosome qui contient l'ARNm et l'ARNt initiateur correctement disposés. Le complexe d'initiation est alors prêt à fonctionner.

3. Phase d'élongation

a. Définition

La *phase d'élongation* (fig. 16.5) est une phase se déroulant au cours de la traduction, caractérisée par l'allongement de la molécule protéique synthétisée.

b. Mécanisme de l'élongation

L'ARNt d'initiation occupe le site P. La première étape de l'élongation est la fixation d'un second aminoacyl-ARNt sur le site A (site aminoacyl) inoccupé.

► Fixation du complexe aminoacyl-ARNt-EF1-GTP

Un deuxième *aminoacyl-ARNt-EF1-GTP* pénètre dans le site A quel que soit l'acide aminé transporté. Mais, pour être fixé à l'ARNm, il faut que cet aminoacyl soit associé à un facteur de transcription EF1 uni au GTP et que l'anticodon de l'ARNt de ce complexe soit complémentaire du codon de l'ARNm situé dans le site A. Si l'anticodon et le codon sont complémentaires, GTP est hydrolysé et le complexe libère TU-GTP ou EF1-GDP qui est immédiatement phosphorylé en EF1-GTP.

► Formation du lien peptidique

Le Met-ARNt est lié au site P. L'acide aminé suivant, dont la nature est spécifiée par le codon suivant situé dans le site A, vient se fixer sur ce site. La sélection de l'aminoacyl-ARNt dépend de EF1 (elongation factor ; facteur d'élongation) qui forme un complexe ternaire avec GTP et l'aminoacyl-ARNt. Un nouveau complexe se place dans le site A (par exemple *aa-ARNt-EF1-GTP*). Une peptidyl transférase hydrolyse Met-ARNt. Le résultat de cette hydrolyse est le transfert de la méthionine sur l'acide aminé *aa₁* de l'aminoacyl-ARNt situé dans le site A. Cette réaction ne nécessite pas l'utilisation d'une énergie externe fournie par l'ATP ou GTP : l'énergie de la liaison ester méthionyl-ARNt est suffisante pour former une liaison peptidique entre la *méthionine* et *aa₁*.

La molécule d'ARNt au site A reste encore attachée par une extrémité à son codon complémentaire de l'ARNm et l'autre extrémité au dipeptide méthionine-phénylalanine. GTP est hydrolysée et le complexe libère EF1-GDP qui est immédiatement phosphorylé en EF1-GTP.

► Translocation

L'ARNm et le dipeptidyl-ARNt (ARNt-méthionine-*aa₁*) doivent se déplacer afin que l'ARNm puisse placer le codon suivant dans le site A et que le site A soit libre pour recevoir un autre aminoacyl-ARNt. Un facteur d'élongation EF2 (une translocase) déplace l'ARNm en direction de l'extrémité 3' et assure le déplacement du dipeptidyl-ARNt qui se fixe sur le site P, libérant ainsi le site A. Cette translocation utilise l'énergie libérée par l'hydrolyse de GTP.

En même temps que le dipeptidyl-ARNt est déplacé vers le site P, l'ARNt donneur de la méthionine est déplacé vers la troisième région du ribosome, le site E, où il est désacylé et éjecté.

Le site A est prêt à recevoir un autre aminoacyl-ARNt.

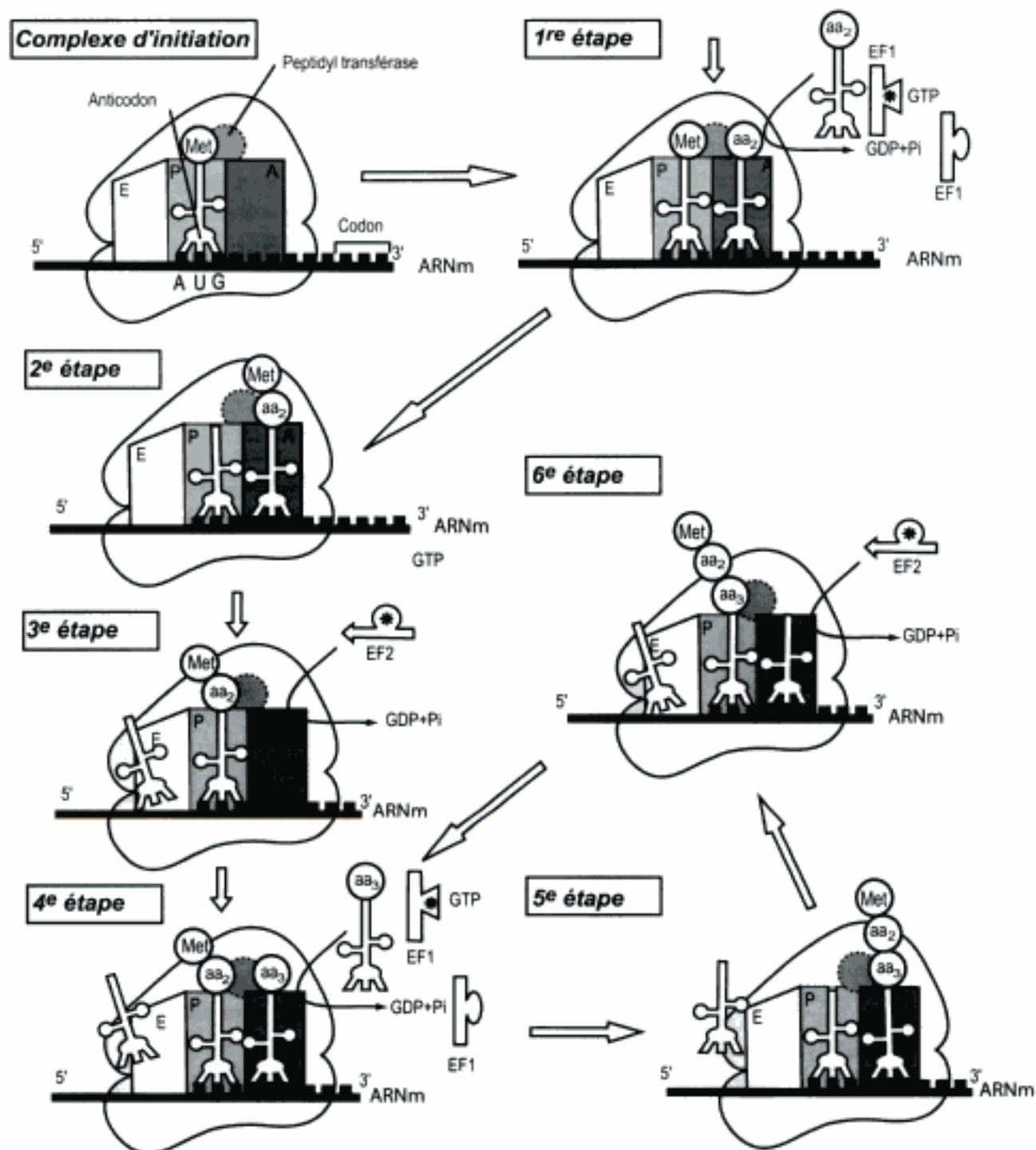


Fig. 16.5

Phase d'élongation.

Le complexe d'initiation contient une peptidyl-transférase située entre le site P et le site A.

Première étape de l'élongation : un ARNt porteur d'un acide aminé (aa₂) se dispose dans le site A. Deuxième étape : la première liaison peptidique unit Met à aa₂. Troisième étape : le complexe ARNm-peptidyl ARNt est transloqué sur le site P tandis que l'ARNt initiateur désacétylé est déplacé sur le site E. Quatrième étape : la fixation de l'acide aminé suivant sur le site P induit la libération de l'ARNt désacétylé situé sur le site E. Cinquième étape : le dipeptide, le complexe ARNm-Met-aa₂, forme une liaison peptidique avec aa₃. Sixième étape : le complexe ARNm-Met-aa₂-aa₃ est transloqué sur le site P tandis que le site E se libère de l'ARNt initiateur.

Les acides aminés constituant la protéine en cours d'élongation sont ajoutés au cours de chacune des répétitions d'un cycle comprenant les quatrième, cinquième et sixième étapes. Redessiné d'après T.M. Delvin, *Textbook of biochemistry*.

Hidden page

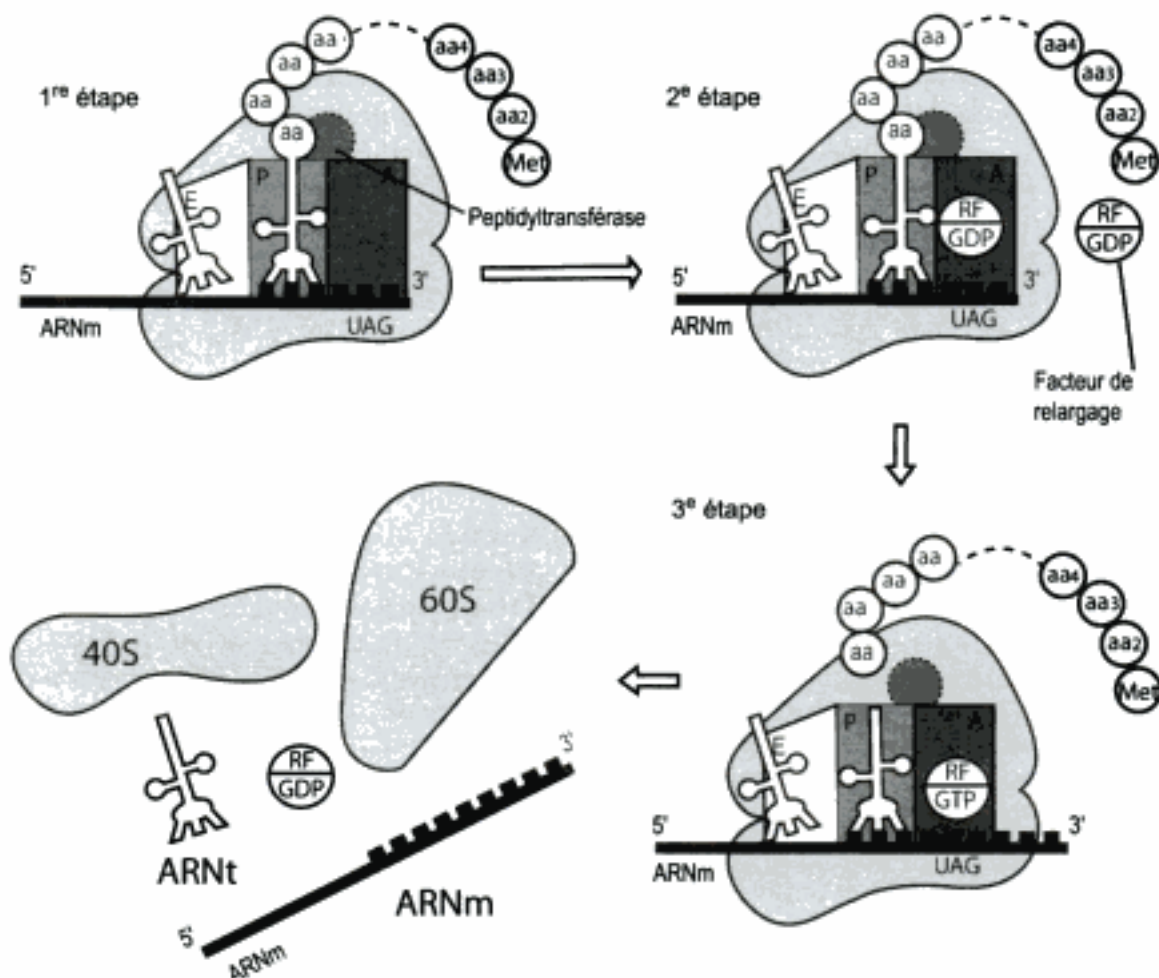


Fig. 16.6

Fin de la synthèse protéique.

Un signal d'arrêt, UAA, UAG ou UGA, interrompt la synthèse. L'ARNt porteur de la chaîne peptidique est situé dans le site P. Un facteur de libération (ou de relargage) lié à GTP se fixe sur le site A. Le ribosome se dissocie en ses deux constituants et libère la protéine synthétisée, RF, l'ARNt et l'ARNm. Redessiné d'après T.M. Delvin, *Textbook of biochemistry*.

3. Les polysomes libres

Les polyribosomes libres dans le cytosol élaborent des protéines destinées à la cellule et à ses organites (fig. 16.7).

Ainsi, ils élaborent des protéines destinées au cytosol (par exemple, les protéines de la glycolyse ou les protéines du cytosquelette), les protéines périphériques de la face cytosolique de la membrane plasmique et du système endomembranaire et les protéines des mitochondries et des peroxysomes.

Les ribosomes et la molécule d'ARNm établissent des rapports étroits (la zone de contact sur la sous-unité a une longueur d'une dizaine de nanomètres : chaque sous-unité entre en contact avec 25 à 30 nucléotides de la molécule d'ARNm).

En fin de synthèse, les ribosomes des polysomes se séparent en leurs deux sous-unités.

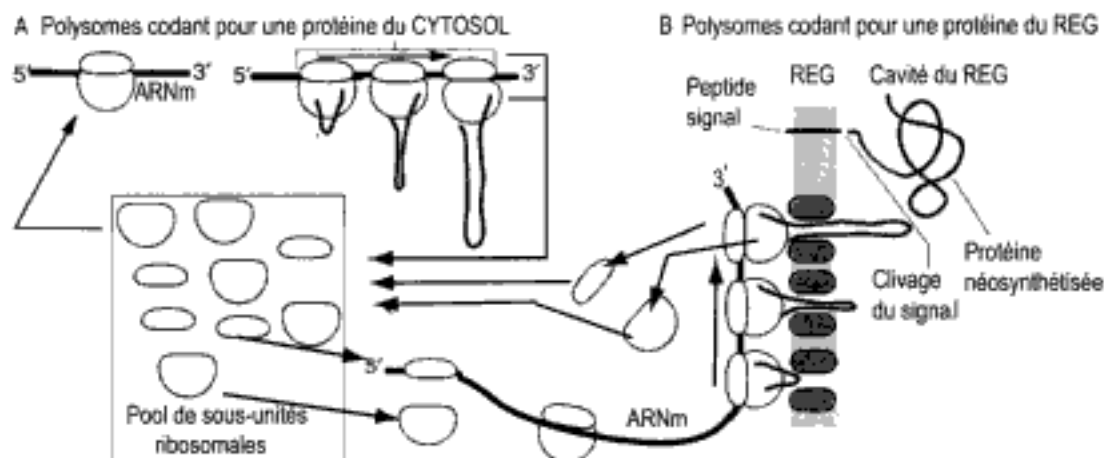


Fig. 16.7

Polysomes libres dans le cytosol, polysomes liés au REG et pool des sous-unités ribosomales.

4. Polysomes liés au REG

Les polysomes liés à la membrane du réticulum endoplasmique élaborent les protéines à destination extracellulaire et également des protéines membranaires intrinsèques ou les protéines ancrées au GPI.

III. Le réticulum endoplasmique

A. Définition

Le RE, centre de la translocation des protéines et de la synthèse des lipides, est un ensemble de cavités (soit tubulaires, soit en forme de citerne), occupant 10 à 15 % du volume cellulaire, isolé du cytosol par une membrane recouverte de ribosomes (REG) ou non (REL), responsable de biosynthèse des protéines ou des phospholipides (fig. 16.8).

Le REL synthétise des stéroïdes, des lipides et le REG des protéines destinées à la cellule ou à l'exportation (sécrétion).

B. Composition membranaire

Les techniques d'ultracentrifugation différentielle isolent la membrane du RE sous la forme de petites vésicules, les microsomes, recouvertes ou non de ribosomes. Les techniques de cryofracture montrent que la quantité de protéines, dans ces cytomembranes, est inférieure à celle de la membrane plasmique.

L'analyse biochimique, après traitement par la ribonucléase pour éliminer les ribonucléoprotéines, révèle que les membranes du RE n'ont pas la même composition que la membrane plasmique ; elles contiennent 30 % de lipides, 70 % de protéines et des sucres dont la quantité est négligeable.

Les protéines sont :

- les enzymes nécessaires à la synthèse des protéines, au métabolisme des lipides, à la détoxification. Le cytochrome P450, qui intervient dans les mécanismes de détoxification, est une protéine intrinsèque : son site

Hidden page

D. Fonctions du REG

1. Translocation des protéines solubles

a. Signal peptidique

La protéine en cours de synthèse par le ribosome porte, à son extrémité aminotermine, un signal peptidique hydrophobe d'adressage au REG et de début de transfert.

b. Reconnaissance du signal peptidique par la SRP

La SRP (*Signal Recognition Particle* : particule de reconnaissance du signal) est un complexe ribonucléoprotéique formé par un ARN 7 S associé à des protéines : elle fait la navette entre la membrane du REG et le cytosol (fig. 16.9). Elle reconnaît le signal peptidique et s'associe avec lui dès qu'il émerge de la grande sous-unité. La SRP se fixe alors sur le site A de la grande sous-unité et bloque temporairement la traduction jusqu'à ce que la sous-unité soit fixée sur le REG.

La SRP agit comme une étiquette et permet à l'ensemble SRP/ribosome de s'unir au récepteur de la SRP, une protéine intrinsèque de la membrane du RE. Cette liaison est GTP-dépendante (fig. 16.9).

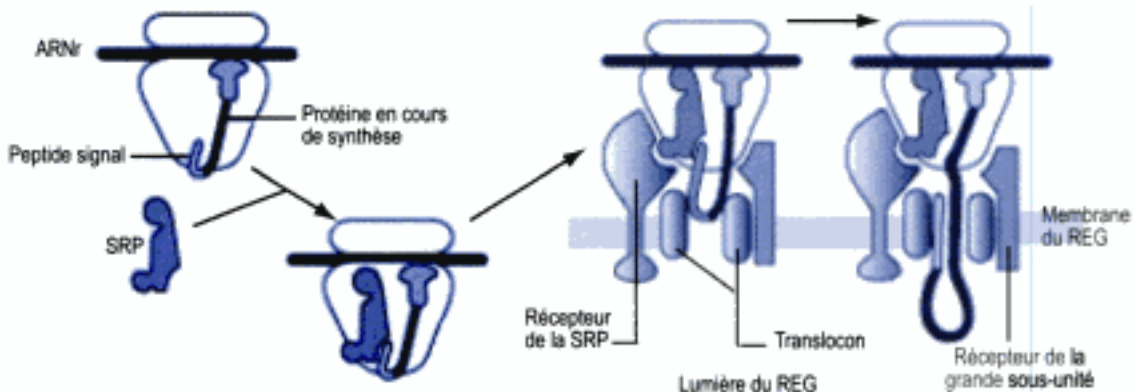


Fig. 16.9

Reconnaissance du signal peptidique par la particule SRP et fixation du ribosome sur le translocon de la membrane du REG.

c. Fixation du ribosome sur son récepteur

Le ribosome se fixe par sa grande sous-unité à un récepteur membranaire du RE, le récepteur du ribosome.

d. Translocon (translocateur ou complexe de translocation Sec61p)

La grande sous-unité du ribosome repose alors sur un transporteur de protéine transmembranaire du RE, le translocon. Le peptide signal se fixe sur le translocon qui ouvre son pore. Le pore du translocon est aqueux. L'identification des constituants protéiques de ce pore de translocation a montré qu'il est constitué par trois sous-unités du complexe Sec61p. Cet hétérotrimère est associé à une protéine qui possède 10 domaines transmembranaires et deux petites sous-unités α et γ .

e. Séparation SRP/récepteur de la SRP

Dès que le ribosome repose sur la membrane du REG, la SRP se sépare de la séquence signal (cette séparation nécessite l'union de GTP à une protéine G et également du site A et du récepteur de la SRP). La séparation SRP/récepteur de la SRP autorise le début de la translocation (passage à travers la membrane du RE par le translocon).

f. Translocation cotraductionnelle de la protéine

L'élongation de la protéine pousse la boucle protéique dans le REG à travers le pore du translocon, au fur et à mesure de la progression de la biosynthèse. Dans la lumière du REG, la boucle polypeptidique est prise en charge par les protéines BiP (*Binding Proteins* ; protéines de liaison) apparentées aux protéines Hsp70 cytosoliques. Ces protéines contrôlent la perméabilité du pore du translocon et interviendraient dans la progression de la boucle dans la lumière du REG.

g. Fin de la traduction

À la fin de la traduction, le pore se ferme. Le translocon s'ouvre latéralement et la séquence signal hydrophobe diffuse dans la bicouche lipidique de la membrane du REG. Le peptide signal demeure intramembranaire. Une peptidase sépare le signal du reste de la molécule (fig. 16.10).

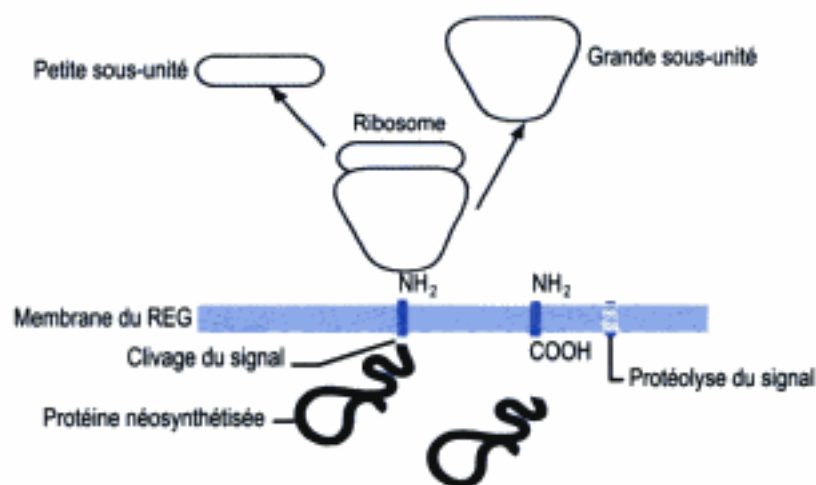


Fig. 16.10
Fin de la traduction.

■ Les protéines synthétisées sont en général glycosylées au cours de la traduction (la glycosylation est cotraductionnelle).

Cette excision libère la protéine dans la lumière du REG qui est alors transportée par la voie sécrétrice. Les ribosomes se détachent de la membrane : leurs deux sous-unités se séparent et gagnent un pool. Elles pourront éventuellement être réutilisées pour de nouvelles synthèses.

2. Biogenèse des membranes

Les membranes ne se forment pas *de novo* mais toujours à partir d'une membrane préexistante. Chaque génération cellulaire lègue à la suivante des membranes préformées qui interviennent dans la constitution des membranes de la cellule en croissant par accréion. Cette croissance est

Hidden page

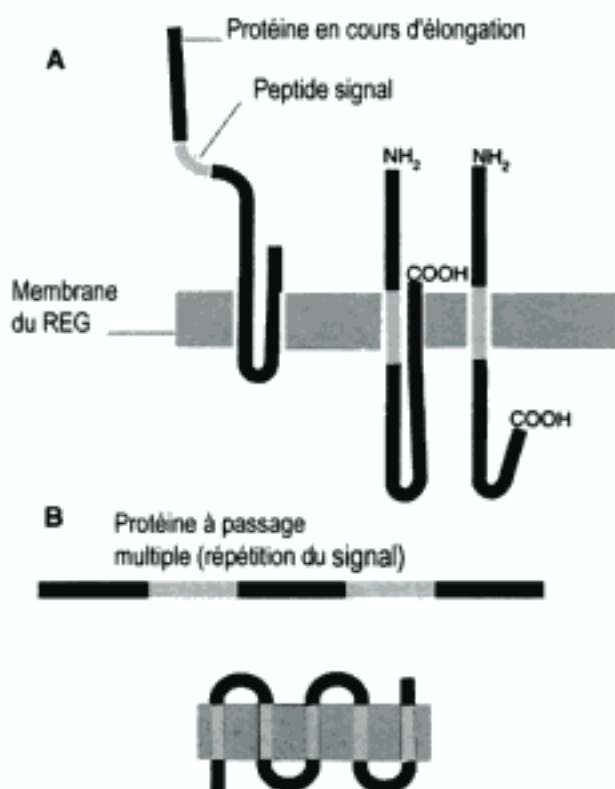


Fig. 16.11

Insertion d'une protéine dans la membrane du REG.

- A.** Protéines à traversée unique possédant un signal d'adressage interne (non situé à l'extrémité).
B. Protéines à traversées multiples : le signal est répété tout au long de la molécule ; ces signaux jouent, en alternance, le rôle de peptides d'initiation de la translocation et de terminaison du transfert.

minal de début de transfert et un peptide de terminaison de transfert hydrophobe. Lorsque cette séquence d'arrêt entre dans le translocon et interagit avec un site de liaison, le translocateur modifie sa conformation et libère la protéine latéralement dans la bicouche lipidique. Ce peptide de terminaison de transfert demeure dans la membrane : il se forme ainsi un segment transmembranaire, porteur d'une extrémité carboxyterminale dans le cytosol et d'une extrémité aminoterminal dans la lumière du RE. *Le peptide signal de début de transfert est interne (c'est-à-dire dans la molécule) : il est également reconnu par la SRP. Le ribosome s'accroche au translocon et synthétise la protéine. Si les acides aminés chargés positivement sont plus nombreux dans le segment protéique qui précède le signal d'initiation, la protéine est insérée dans la membrane du RE, de telle sorte que l'extrémité aminoterminal est située dans le cytosol et l'extrémité carboxyterminale dans la lumière du RE (fig 16.11B). En revanche, si les acides aminés chargés positivement sont surtout localisés après le signal d'initiation, c'est l'extrémité carboxyterminale qui se situera dans le cytosol.*

► Protéines à traversées multiples

Les protéines à traversées multiples décrivent, entre les segments intramembranaires, des boucles, alternativement dans le cytosol et dans la lumière du RE. Ces protéines contiennent plusieurs peptides « signal » internes qui jouent le rôle d'initiateur de transfert et, alternativement en fonction de leur position, un rôle d'initiateur ou de terminaison de la translocation. Ces séquences peptides « signal » se succèdent tout au long de la molécule. La première séquence rencontrée initie la translocation, une boucle pénètre dans le RE : lorsque la seconde séquence passe dans le translocon, la translocation s'arrête, de telle sorte que le segment

Hidden page

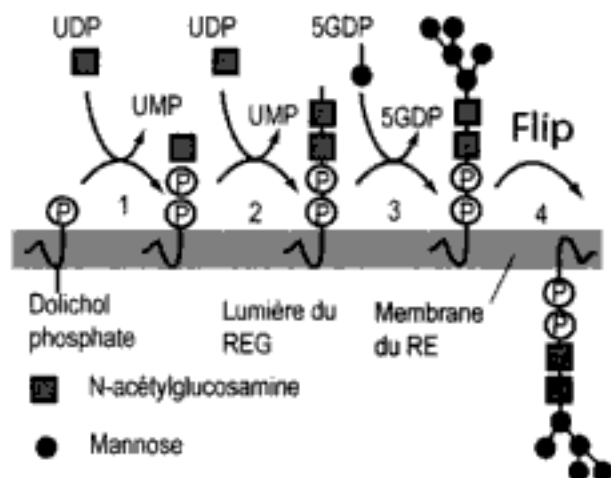


Fig. 16.12
Glycosylation du dolichol.

P-dolichol. Les autres additions suivantes de sucre se déroulent selon le même modèle.

Sur la molécule $(\text{GlcNAc})_2\text{-P-P-dolichol}$, cinq résidus mannose s'accrochent successivement et constituent un $(\text{Man})_5(\text{GlcNAc})_2\text{-pyrophosphoryl-dolichol}$ [(Man : mannose) : $(\text{Man})_5\text{-(GlcNAc)}_2\text{-P-P-dolichol}$].

Cette molécule possède, grâce à ces additions de sucre, une arborisation sucrée qui s'épanouit sur la face cytoplasmique de la membrane du RE.

Le $(\text{Man})_5\text{-(GlcNAc)}_2\text{-P-P-dolichol}$ est ensuite réorienté vers la face luminale du RE (fig. 16.13), par un mouvement de flip-flop. Après cette réorientation, l'arborisation sucrée s'accroît encore par accrochage séquentiel de quatre résidus mannose [$(\text{Man})_9(\text{GlcNAc})_2\text{-P-P-dolichol}$], puis de trois résidus glucose pour former le précurseur oligosaccharidique $(\text{Glc})_3(\text{Man})_9(\text{GlcNAc})_2\text{-P-P-dolichol}$.

► Transfert du précurseur oligosaccharidique sur la protéine

Le transfert est cotranslationnel.

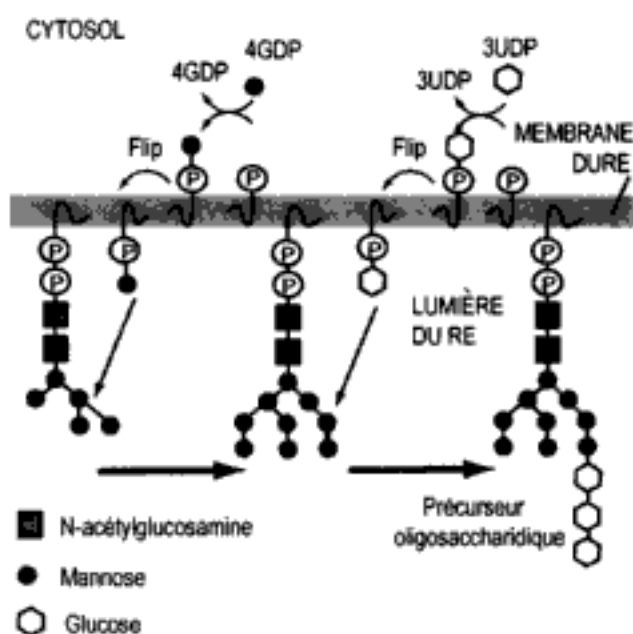


Fig. 16.13
Fin de la synthèse du précurseur oligosaccharidique.

Le précurseur oligosaccharidique est transféré du dolichol sur une molécule d'asparagine (Asn) du polypeptide qui, en cours de synthèse, émerge de la membrane du RE dans la lumière. Ce transfert donne naissance à une glycoprotéine répondant à la formule : $(\text{Glc})_3(\text{Man})_9(\text{GlcNAc})_2\text{-Asn}$ -protéine qui perd successivement trois glucoses et un mannose (fig. 16.14).

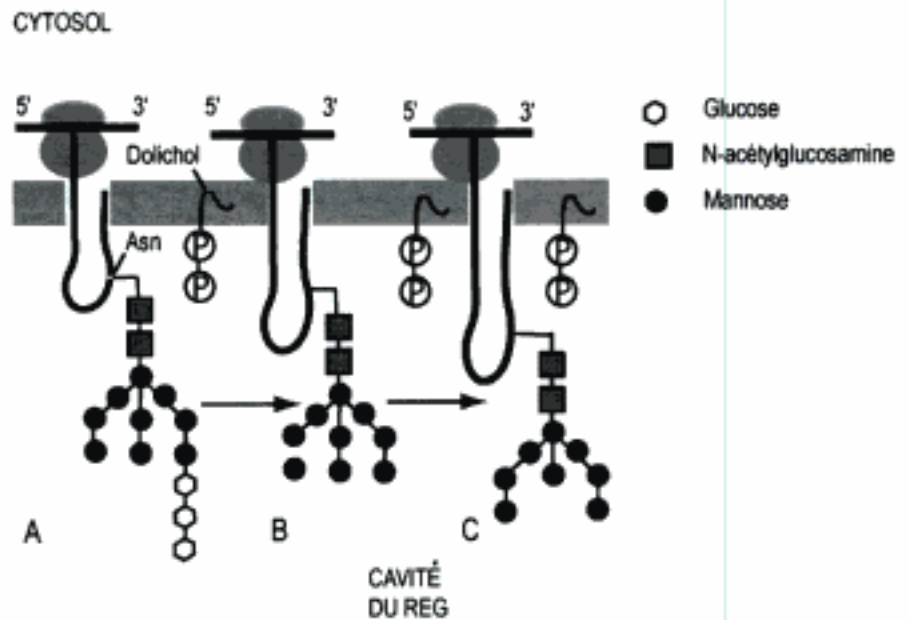
Fig. 16.14

Transfert du précurseur oligosaccharidique sur la protéine en cours de synthèse.

A. L'oligosaccharide est transféré en bloc à un résidu asparagine (Asn) de la chaîne polypeptidique en cours de synthèse. Les deux phosphates restent sur le dolichol.

B. Trois résidus glucose sont éliminés par des glucosidases.

C. Un résidu mannose est éliminé.



4. Glypiation

► Définition

La glypiation est la fixation d'un radical de glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) sur une protéine qui peut ainsi s'attacher à une membrane.

a. GPI

Le mode d'amarrage d'une protéine périphérique extracellulaire de la membrane plasmique se fait par liaison d'une molécule de GPI à un acide aminé en position C-terminale de la protéine périphérique (fig. 16.15). Cette liaison avec le GPI se déroule dans le RE.

► Structure du GPI

Le GPI est constitué par un segment oligosaccharidique court uni à une molécule de phosphatidylinositol encastrée dans le feuillet externe de la membrane plasmique. À noter que le phosphatidylinositol est surtout présent dans le feuillet cytosolique de la membrane, lorsqu'il n'est pas engagé dans la constitution du groupement GPI.

► Assemblage des protéines ancrées au GPI

La fraction protéique de la glycoprotéine, ancrée au GPI, est synthétisée, sous la forme d'une protéine, par des ribosomes libres dans le cytosol. Cette protéine est adressée au REG. Elle traverse la membrane par son extrémité aminoterminal : l'extrémité carboxyterminale reste insérée dans la double couche lipidique. Elle subit alors une N-glycosylation,

absolument superposable à ce qui a été décrit précédemment, puis acquiert une conformation repliée.

Les précurseurs cytosoliques de GPI s'organisent en un groupement glycosyl phosphatidylinositol, sur la face externe de la membrane du REG. Un mouvement de flip-flop transporte le GPI de la face cytosolique dans la face luminale.

Une peptidase sépare l'extrémité carboxyterminale du reste de la protéine néosynthétisée (fig. 16.15). La protéine, qui n'est plus insérée sur la face interne (luminale) de la membrane du RE, se lie au GPI. Grâce au flux centrifuge des membranes, ces protéines glycosylées ancrées au GPI sont transportées vers les vésicules de sécrétion.

Les chaînes glucidiques de ces protéines ancrées sont tournées vers la lumière de ces vésicules. L'exocytose permet l'incorporation des membranes vésiculaires dans la membrane plasmique, la face luminale étant tournée vers le milieu extracellulaire.

► Fonction du GPI

Le GPI confère à la protéine, qui lui est fixée, une mobilité rapide à la surface de la double couche lipidique. Ce mode d'ancrage permet, en présence de phospholipase C, le détachement de la protéine fixée sur le phosphatidylinositol. L'action de la phosphatidylinositol phospholipase C sur le phosphatidylinositol libère le diglycérade, un second messager qui peut activer la protéine kinase C, traduisant ainsi les signaux reçus par la membrane plasmique.

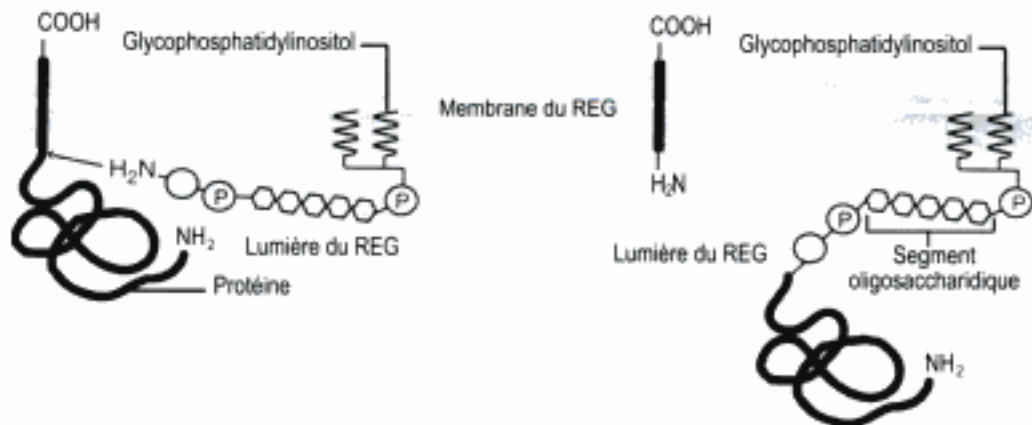


Fig. 16.15

Glypiation : assemblage de la protéine liée au GPI.

Une protéine néosynthétisée se lie, après clivage de son peptide signal, à une molécule de GPI qui l'ancrage dans le feuillet interne ou luminal de la membrane du REG.

5. Assemblage des protéines

Des protéines constituées par plusieurs chaînes traduites à partir d'ARNm différents sont assemblées dans le REG. Par exemple, les immunoglobulines sont constituées par deux chaînes lourdes identiques associées par des ponts disulfures. Chaque chaîne lourde est associée à une chaîne légère identique à celle qui est portée par l'autre chaîne. Ces deux chaînes sont synthétisées séparément. La protéine DPI intervient dans la formation des liaisons disulfures.

6. Repliement des protéines dans la lumière du RE

Le repliement des protéines néosynthétisées dépend soit d'une protéine enzymatique, la DPI, soit d'une protéine chaperonne, la BiP, soit de la calnexine et de la calréticuline.

a. Protéine disulfure isomérase

DPI contient des sites actifs, formés par une séquence aminée comprenant deux cystéines séparées par deux acides aminés (par exemple Cys-Gly-His-Cys : ces sites actifs sont capables de se lier aux cystéines de la molécule protéique néosynthétisée). DPI, grâce à l'environnement oxydant du RE, en présence de glutathion et d'ATP, catalyse la formation de ponts disulfures : la formation de ces ponts se traduit par une oxydation (perte de quatre hydrogènes et formation d'une liaison covalente unissant des groupes de deux molécules de cystéine). L'ATP, nécessaire à la formation des ponts S-S, est acheminée dans la lumière du RE par des protéines transporteuses situées dans la membrane du RE.

DPI, en créant des liaisons disulfures, peut provoquer l'isomérisation de molécules mal repliées ou sa réduction (suppression d'un disulfure). Si DPI est dans l'incapacité de corriger une mauvaise conformation, les molécules constituent des agrégats qui sont très rapidement dégradés (fig. 16.16).

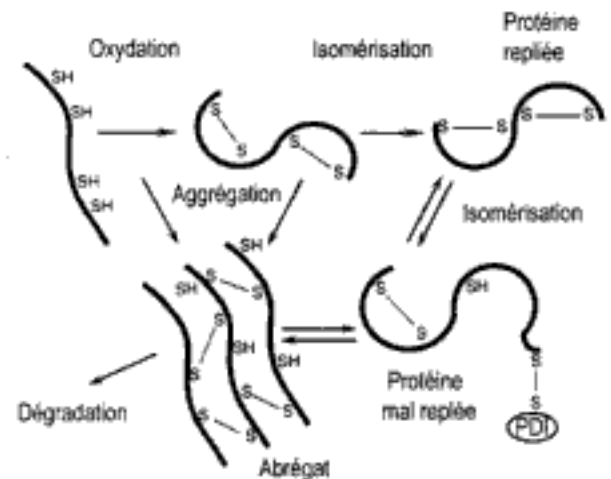


Fig. 16.16

DPI et repliement des protéines nouvellement synthétisées.

b. Protéine BiP

En présence d'ATP, la BiP permet aux glycoprotéines d'acquies leur forme définitive. Dans le REG, BiP arrête le transfert des protéines mal configurées vers l'appareil de Golgi. Ces protéines repassent dans le cytosol où les protéasomes les détruisent.

c. Calnexine et calréticuline

La calnexine et la calréticuline sont des protéines chaperons résidentes du REG dont l'activité nécessite la présence de calcium : elles contrôlent le repliement des protéines N-glycosylées (fig. 16.17).

La calnexine et la calréticuline sont des homologues des lectines. Elles se lient sélectivement à certains oligosaccharides en cours de synthèse. Leur ligand contient un seul résidu glucose. Ce glucose est ajouté, aux

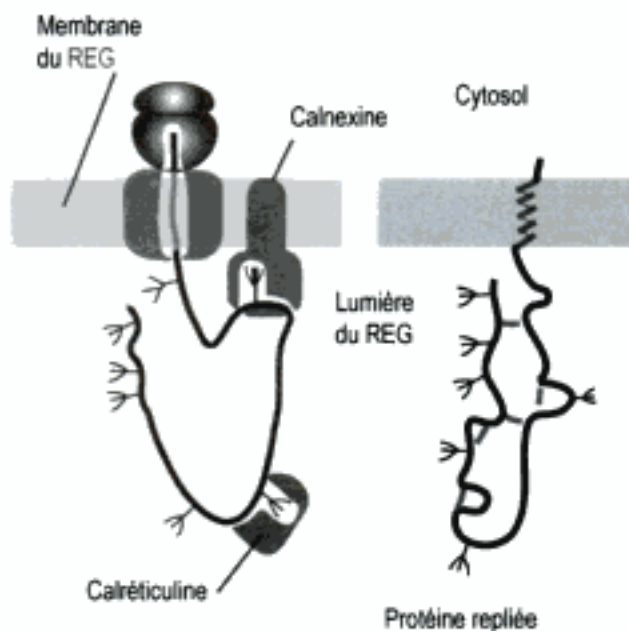


Fig. 16.17

Calnexine et calréticuline.

La calnexine et la calréticuline se fixent sur les protéines dont le mauvais ou le non-repliement est signalé par une glycosyltransférase spécifique qui a reconnu ces chaînes et leur a ajouté du glucose.

protéines N-glycosylées non ou mal repliées, par une glycosyltransférase spécifique. La liaison de la calnexine et de la calréticuline sur ces chaînes de protéines, « marquées » par un glucose, prévient soit un repliement prématuré, soit l'agrégation de segments protéiques adjacents.

Mais il est aussi possible qu'au cours de la N-glycosylation, les glycosidases n'aient pas éliminé toutes les molécules de glucose. En effet, au cours de la N-glycosylation, des glucosidases du RE enlèvent les trois résidus glucose et un résidu mannose : $(\text{Glc})_3 - (\text{Man})_9 - (\text{GlcNAc})_2$ -protéine devient $(\text{Man})_8 - (\text{GlcNAc})_2$ -protéine qui peut alors quitter le REG pour gagner l'appareil de Golgi. S'il subsiste un seul glucose, BiP ou DPI ne peuvent assurer le repliement correct de la protéine N-glycosylée. La calnexine ou la calréticuline se fixent sur les protéines N-glycosylées mal repliées puisqu'elles contiennent au moins un glucose. Le repliement se fera après élimination du glucose par les glucosidases.

7. Destruction des protéines néosynthétisées

Dans des conditions normales, les protéines mal configurées ou en quantité trop importante, contenues dans le REG, sont détruites. Les protéines à détruire subissent une translocation inverse (transport rétrograde) grâce à une molécule chaperonne du RE : elles passent par le pore du translocon pour gagner le cytosol. Ces protéines, exposées dans le cytosol, sont poly-ubiquitinylées puis transférées au protéasome, un complexe protéolytique, qui les hydrolyse en de multiples petits peptides (fig. 16.18).

8. Participation à la présentation des antigènes

a. Complexe majeur d'histocompatibilité

Le CMH désigné également par HLA (*Human Leucocyte Antigen*) chez l'Homme regroupe trois classes d'antigènes. Le CMH I seul nous intéresse ici car il existe dans presque toutes les cellules nucléées. Le CMH I est l'ensemble des gènes codant les molécules de présentation des peptides

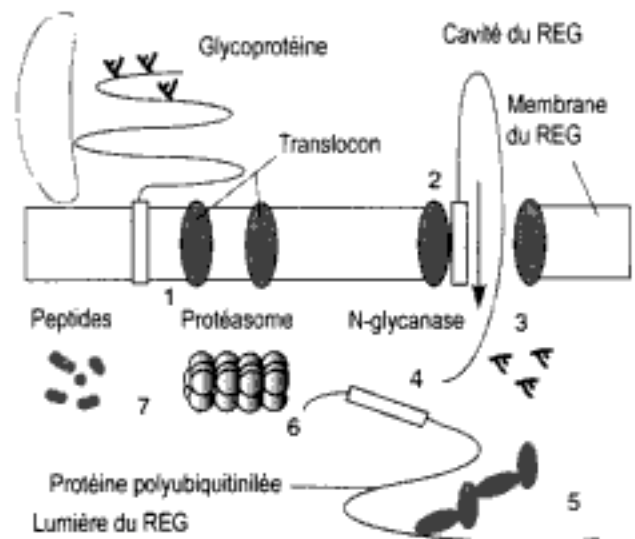


Fig. 16.18

Translocation inverse.

1. Une chaperonne force l'association de la glycoprotéine avec le translocon.
2. Translocation inverse du réticulum endoplasmique vers le cytoplasme.
3. Déglycosylation par la N-glycanase.
4. Libération de la protéine dans le cytosol.
5. Polyubiquitinylation.
6. Ciblage vers le protéasome.
7. Dégradation.

La voie de dégradation ubiquitine/protéasome

► **L'ubiquitine** est une molécule qui permet de cibler les protéines à dégrader. Elle joue un rôle essentiel dans la dégradation des protéines par le protéasome. C'est une molécule protéique thermostable, comprenant environ 76 résidus d'acides aminés, localisée dans le noyau et dans le cytoplasme de très nombreux organismes (jamais dans le réticulum endoplasmique ou l'appareil de Golgi). Elle appartient à la famille des molécules chaperonnes qui se combinent aux résidus lysine des protéines destinées à être dégradées par les protéasomes. Elle est activée par adénylation. Une fois activée, une enzyme E1 active se fixe à l'ubiquitine en présence d'adénosine triphosphate. L'ubiquitine est ensuite transférée à une enzyme de conjugaison E2 qui transporte à son tour les molécules d'ubiquitine sur le groupement NH_2 des lysines (liaison isopeptidique) de la protéine substrat. Cette ubiquitinylation d'une protéine cible permet aux protéasomes de l'hydrolyser en de multiples petits peptides.

► **Le protéasome** est un compartiment protéolytique. Il est constitué par un assemblage de plusieurs sous-unités protéolytiques disposées en un cylindre. Les sites actifs de protéolyse sont situés sur la face interne du cylindre. La protéolyse s'effectue au centre du cylindre, qui protège les autres parties de la cellule de dégâts protéolytiques non spécifiques. Il dégrade les protéines à demi-vie courte, alors que les lysosomes dégradent les protéines à demi-vie longue. On trouve des protéasomes dans le noyau et le cytoplasme des cellules eucaryotes.

aux lymphocytes T. Il regroupe les gènes codant pour les protéasomes, les gènes TAP1 et 2, ainsi que des gènes codant pour le transport des protéines dégradées. Ils codent la chaîne α (chaîne lourde) des molécules d'histocompatibilité de classe I. Les produits de ces gènes sont reconnus par les lymphocytes T CD8^+ , le plus souvent cytotoxiques.

b. Origine des antigènes

Chez l'Homme, les protéines du CMH de classe I sont produites par le REG par la plupart des cellules nucléées. Les protéines d'origine virales, dégradées par les protéasomes, libèrent des peptides dans le cytosol. Si ces peptides possèdent une activité antigénique (fig. 16.19), ils sont transloqués dans le REG par des protéines transmembranaires, les TAP1 et TAP2.

Hidden page

séquence aminée KdEL, localisée à l'extrémité carboxyterminale. Cette séquence KdEL se fixe à un récepteur membranaire du RE et maintient ainsi la protéine dans le RE (voir chapitre 17, p. 484). La séquence KDEL ajoutée expérimentalement à l'extrémité C-terminale d'une protéine induit sa rétention dans le RE.

E. Fonction du réticulum endoplasmique lisse

1. Métabolisme des lipides

a. Principale source de membranes pour le REG

Le REL est l'une des principales sources de membranes pour le REG. Il est en effet le siège de l'assemblage des phospholipides membranaires, du cholestérol et du céramide. La face cytosolique de la membrane du REL est le lieu d'assemblage de ces lipides à partir de molécules présentes dans le cytosol. La répartition des lipides dans la bicouche membranaire dépend des flippases, protéines intégrées dans la membrane du REL, qui permettent le basculement d'un lipide d'une hémimembrane à l'autre.

b. Synthèse du cholestérol

La plupart des cellules des tissus animaux sont capables de synthétiser le cholestérol, mais les plus actives sont les hépatocytes et les entérocytes. Sur les 800 mg de cholestérol synthétisés chaque jour par l'Homme, environ 400 mg proviennent de l'activité hépatocytaire. Le point de départ de la synthèse du cholestérol, dont les 27 atomes de carbone dérivent de l'acétyl CoA, est la condensation de l'acétyl CoA avec l'acétoacétyl CoA qui produit le 3-HMG CoA (3-hydroxy-méthylglutaryl CoA). Le 3-HMG CoA est réduit dans le cytosol en mévalonate par une enzyme transmembranaire du REL, la HMG-CoA réductase. Le mévalonate 4, après trois réactions faisant intervenir l'ATP, est converti en isopentényl pyrophosphate. La fusion de deux molécules d'isopentényl pyrophosphate donne un groupement à dix atomes de carbone, le géranyl pyrophosphate. Ce dernier peut fixer une autre molécule isopentényl pyrophosphate pour donner le farnésyl pyrophosphate. Les enzymes de la membrane REL catalysent la condensation du farnésyl-PP en squalène et sa cyclisation en cholestérol. Le cholestérol est exporté vers l'appareil de Golgi puis, vers la membrane plasmique où il représente jusqu'à 50 % des lipides de la bicouche.

Il existe deux mécanismes de régulation de la synthèse du cholestérol. Le cholestérol règle sa propre synthèse : un taux trop élevé dans la membrane du REL diminue la synthèse du cholestérol en déclenchant la dégradation de l'HMG-CoA réductase par le protéasome. L'HMG-CoA possède des domaines transmembranaires qui détectent le cholestérol.

Le taux de cholestérol dans la cellule est contrôlé par le précurseur d'un facteur de transcription SREBP (*Steroid Response Element Binding Protein*) et par SCAP (*SREBP Cleavage-Activating Protein*). SCAP est une protéine enzymatique qui soit active SREBP par clivage, soit l'inactive en la séquestrant dans le RE. De plus SCAP possède un domaine qui détecte la concentration locale de cholestérol.

Lorsque le taux de cholestérol baisse, SCAP se combine avec SREBP. Une protéase inactive S1P (*Site 1 Protease* ; protéase du site 1) de la membrane du REL, accompagne le complexe SCAP-SREBP, au cours de

son transfert, vers l'appareil de Golgi. La protéase S1P est activée et hydrolyse SREBP libérant ainsi deux fragments peptidiques liés à la membrane. Une protéase S2P (*Site 2 Protease* ; protéase du site 2), une protéine intramembranaire de l'appareil de Golgi, hydrolyse alors un des deux fragments de la SREBP et libère le domaine N-terminal de SREBP en clivant cette molécule. Ce domaine N-terminal est un facteur de régulation de la transcription qui active des gènes codant pour les enzymes intervenant dans la synthèse du cholestérol. Dans le noyau, le facteur de régulation de transcription se lie aux séquences de régulation des stéroïdes qui amplifient l'activité des gènes codant les enzymes de synthèse du cholestérol. Lorsque le taux de cholestérol augmente, SCAP séquestre SREBP dans le RE et la synthèse de cholestérol diminue.

c. Synthèse d'hormones stéroïdes

Le REL, en collaboration avec les mitochondries, participe à la synthèse de nombreux lipides destinés à l'exportation, et en particulier à celle des hormones stéroïdes, comme les hormones sexuelles. Dans les testicules, les cellules de Leydig, productrices de testostérone, possèdent un REL particulièrement développé. Les hormones stéroïdes sont très solubles dans les lipides : elles sont donc excrétées par diffusion à travers la membrane plasmique. Dans la matrice mitochondriale, le cholestérol est utilisé pour synthétiser une molécule intermédiaire, la prégnénolone. Cette molécule est exportée en direction du REL. Une enzyme intramembranaire, le cytochrome P450, possède un site actif sur la face cytosolique. La prégnénolone ne pénètre pas dans le REL : elle subit dans le cytosol une série d'hydroxylations, qui donne naissance soit à des œstrogènes, des androgènes ou de la progestérone, soit à des métabolites qui retournent dans la matrice mitochondriale pour être transformés en aldostérone ou en cortisol.

d. Synthèse des phospholipides

Les cellules hépatiques contiennent de très importantes quantités de lipides et en particulier des phospholipides (fig. 16.20).

Deux molécules d'acides gras couplées à l'acétylcoenzyme se combinent au glycérol phosphate pour former l'acide phosphatidique grâce à l'acyltransférase. Au cours d'une deuxième étape, l'acide phosphatidique donne une molécule de diglycéride grâce à l'action d'une phosphatase. Au cours de la troisième étape, la phosphocholine, en présence de choline phosphotransférase, s'associe au diglycéride et constitue la phosphatidylcholine. Cette synthèse se déroule dans la couche lipidique externe du réticulum endoplasmique. La molécule phosphatidique peut soit gagner la couche lipidique interne, soit être transportée par les transporteurs cytosoliques (protéines de transfert) en direction des mitochondries ou des peroxysomes.

Les enzymes du REL qui interviennent dans la synthèse des glycérophospholipides sont des protéines intramembranaires : le site actif de ces enzymes est situé sur le versant cytoplasmique. Sur ce site, un acide phosphatidique se constitue par la conjugaison de deux acides gras activés avec une molécule de glycérol-3-phosphate. L'acide phosphatidique donne naissance par déphosphorylation à un diacylglycérol.

L'acide phosphatidique et le diacylglycérol sont utilisés dans la synthèse de la phosphatidylcholine, de la phosphatidyléthanolamine, de la phos-

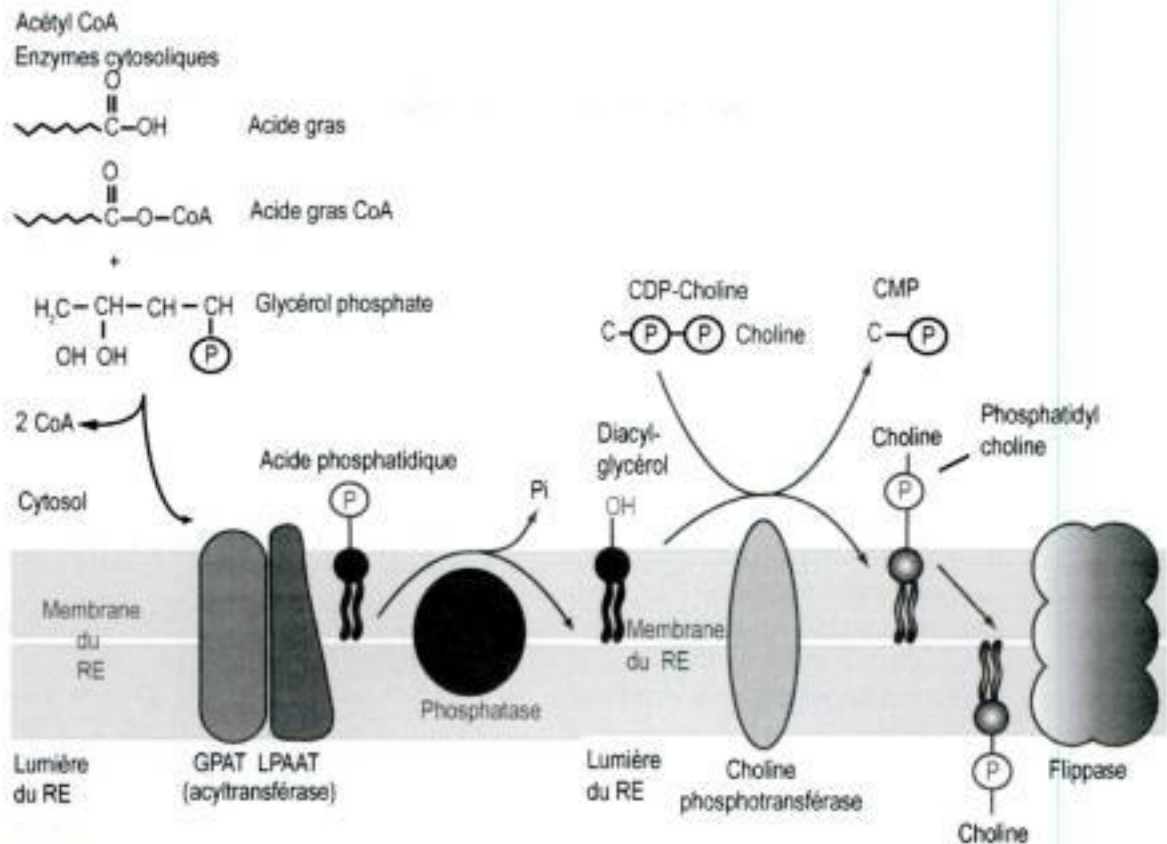


Fig. 16.20

Synthèse d'un phospholipide : la phosphatidylcholine.

phatidylsérine et du phosphatidylinositol qui sont les principaux glycérophospholipides de la membrane plasmique. Après leur synthèse, des protéines de translocation, les flippases, interviennent et répartissent asymétriquement ces phospholipides. Cette même asymétrie persiste dans la plupart des membranes. La synthèse des glycérophospholipides se déroule également dans le feuillet externe du REL. Les flippases interviennent dans la répartition des glycérophospholipides entre feuillet externe et feuillet interne.

e. Élongation des acides gras

Chez les eucaryotes, les acides gras plus longs que le palmitate sont formés par des réactions d'élongation. Ces réactions dépendent d'enzymes situées dans la face cytosolique de la membrane du REL. Des unités à deux carbones sont ajoutées séquentiellement à l'extrémité des acides gras. Cette réaction est catalysée par les mêmes enzymes que celles qui interviennent dans la chaîne de transport d'électrons contenant le cytochrome b5.

2. Libération du glucose à partir du glucose-6-phosphate

Les membranes du REL contiennent la glucose-6-phosphatase. Cette enzyme joue un rôle essentiel dans la libération des molécules de glucose qui constituent le glycogène. En effet, le glycogène est emmagasiné sous la forme de granules isolés ou disposés en rosette attachés à l'extérieur des membranes du REL. Lorsque l'organisme a besoin d'énergie, une

■ La synthèse des sphingolipides se déroule essentiellement dans l'appareil de Golgi et celle des diphosphatidylglycérols (cardiolipides) dans les mitochondries.

phosphorylase clive le glycogène en molécules de glucose-1-phosphate qui sont ensuite converties en glucose-6-phosphate dans le cytoplasme. Le glucose-6-phosphate est transféré par la glucose-6-phosphatase et des molécules porteuses dans la lumière du REL. Le phosphate est enlevé des molécules de glucose-6-phosphate par la glucose-6-phosphatase. Le glucose et le phosphate résultant de l'activité de l'enzyme sont transportés, hors du REL, par le transporteur du glucose GLUT7. Le glucose gagne ensuite les vaisseaux sanguins.

3. Chaînes de transport d'électrons

La membrane du réticulum endoplasmique contient deux chaînes de transport d'électrons caractérisées chacune par la présence d'une hémoprotéine : le cytochrome P450 et le cytochrome b5. La chaîne faisant intervenir le cytochrome P450 transporte des électrons depuis NADPH jusqu'à un substrat réduit (substrat-H) en faisant intervenir la NADPH-cytochrome P-réductase et le cytochrome P450. C'est une petite chaîne respiratoire qui diffère considérablement de la chaîne respiratoire mitochondriale puisqu'elle ne produit pas d'ATP, n'étant pas couplée à des phosphorylations. Cette chaîne réalise une succession d'oxydations qui aboutit à l'hydroxylation d'un substrat (voir « Détoxification », *infra*). La chaîne contenant le cytochrome b5 est constituée par la NADH-cytochrome b5-réductase, le cytochrome b5 et une désaturase : elle joue un rôle essentiel dans la désaturation des acides gras.

4. Détoxification

Le REL joue un rôle essentiel dans la détoxification. La détoxification est l'élimination des substances toxiques par des processus de conjugaison qui les rendent plus solubles : elle se déroule principalement dans le foie, mais également dans les reins, l'intestin, les poumons, la peau (fig. 16.21).

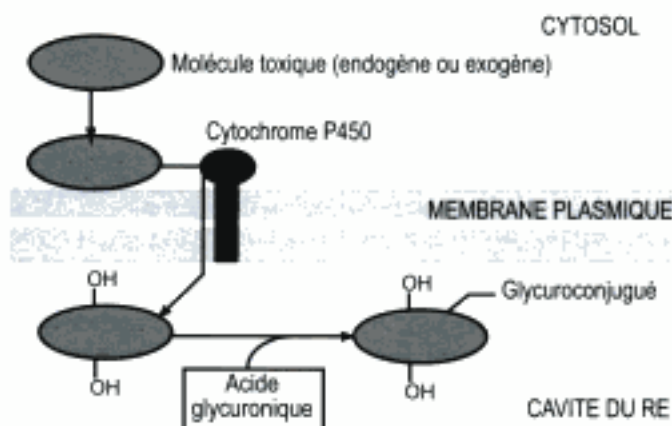


Fig. 16.21
Détoxification par le RE.

Elle se fait en deux étapes. Au cours de la première étape, la substance toxique peut être hydrolysée, réduite, oxydée ou hydroxylée. L'hydroxylation est très fréquente : elle dépend du cytochrome P450, une protéine intrinsèque membranaire du REL qui est associée à un complexe transporteur d'électron. Pendant la deuxième étape, la molécule toxique subit une réaction de conjugaison soit avec l'acide glucuronique donné par

Hidden page

F. Biogenèse du réticulum endoplasmique

1. Demi-vie des molécules protéiques et lipidiques

Les membranes du réticulum endoplasmique sont des structures en équilibre dynamique : la demi-vie des molécules protéiques les plus volumineuses est de 4 à 5 jours, beaucoup plus courte que celle des petites molécules (16 à 28 jours). Le renouvellement des lipides est beaucoup plus rapide : leur demi-vie est de 2 jours.

2. Synthèse des protéines membranaires

Les protéines membranaires du réticulum endoplasmique sont synthétisées par les ribosomes attachés à la membrane du réticulum endoplasmique granulaire et sont transférées dans la membrane au cours de leur elongation.

3. Synthèse des lipides membranaires

Les lipides membranaires, à l'exception de la sphingomyéline et des glycolipides, sont synthétisés dans le réticulum endoplasmique dont la membrane contient les enzymes nécessaires. Les sites actifs sont situés sur la face cytosolique. Les phospholipides s'insèrent, immédiatement après leur synthèse, dans la partie cytosolique de la bicouche de la membrane du RE. Des flippases assurent la migration, vers la bicouche luminale, d'un certain nombre de molécules lipidiques. La synthèse de la sphingomyéline et des glycolipides débute dans le RE et s'achève dans l'appareil de Golgi.

La continuité entre le REL et le REG permet de comprendre que les lipides synthétisés sont ensuite associés dans le REG à des protéines afin de constituer les membranes cellulaires.

La majeure partie des lipides synthétisés est utilisée pour remplacer les lipides appartenant aux membranes limitant les organites comme les mitochondries, les peroxysomes, etc. Les lipides du réticulum endoplasmique sont délivrés à d'autres membranes par des protéines de transfert (fig. 16.22).

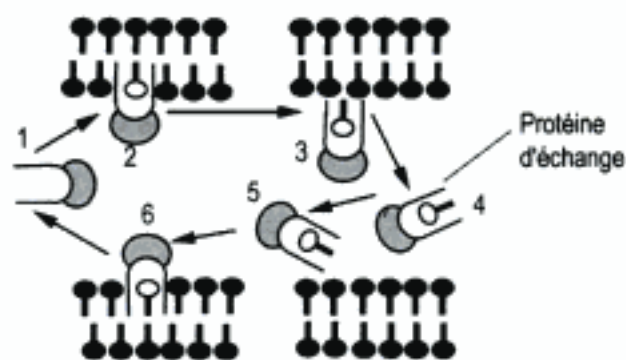


Fig. 16.22

Transport d'une molécule de phospholipide de la membrane du RE vers la membrane d'un autre organe.

Une protéine d'échange ou de transfert (1) capture un phospholipide (2) appartenant au feuillet cytosolique du RE et le transporte (3-5) puis l'insère dans la membrane d'un autre organe.

Ces protéines d'échange peuvent transporter des phospholipides d'une membrane à une autre. Elles sont spécifiques : chacune d'elles ne peut transporter qu'un type donné de phospholipides. Dans le cas du REL, les protéines de transfert capturent les phospholipides grâce à un site de fixa-

tion des phospholipides. Elles transportent ces phospholipides extraits de la membrane et les insèrent dans une autre membrane. La PS est ainsi capturée, décarboxylée puis livrée à la membrane externe mitochondriale. Il en est de même pour la PE qui est acheminée sans modification à la mitochondrie.

La synthèse des lipides membranaires est extrêmement rapide. Par exemple, les cellules hépatiques contiennent de très importantes quantités de lipides et en particulier des phospholipides. Un hépatocyte contient 10^{12} à 10^{13} molécules de glycérophospholipides que le RE synthétise à la vitesse de 10^7 molécules par seconde. Ces synthèses assurent le renouvellement des molécules lipidiques de la membrane du réticulum endoplasmique.

4. Régulation de la synthèse des membranes du RE

Différentes hormones, l'hydroxycortisone, l'insuline, la prolactine, en intervenant dans la différenciation cellulaire de la glande mammaire, induisent un développement important du REG.

L'injection de phénobarbital chez le rat provoque un accroissement de la quantité de REL.

G. Transport des molécules du RE à l'appareil de Golgi

Le transport des cargos en direction de CGN est assuré par des vésicules COP II. Les vésicules COP I formées par le CGN assurent le retour des protéines résidentes du RE vers le REG et des protéines de la machinerie de transport qui seront utilisées pour un nouveau transport.

Voir chapitre 14, « Les vésicules COP II », p. 393, et « Les vésicules COP I », p. 398.

POINTS CLÉS

- La petite sous-unité possède un site de liaison pour l'ARNm, un site P (peptidyl-ARNt), A (aminoacyl-ARNt) et E (site de sortie de l'ARNt).
- Les protéines ribosomales S et L assurent de nombreuses fonctions qui permettent aux ribosomes de traduire les informations transportées par l'ARNm.
- Les informations transmises par l'ADN sont codées (triplet ou codon). Les ARNt qui transportent les acides aminés reconnaissent les codons par leur anticodon.
- Le complexe de pré-initiation (chez les eucaryotes) est formé par la petite sous-unité, l'ARNm fixé sur la petite sous-unité et l'ARNt^{met}. La grande sous-unité se joint à ce complexe et forme le complexe d'initiation, un ribosome fonctionnel. Un autre ARNt, transportant l'acide aminé suivant (désigné par aa1), se fixe sur le site A. Une transpeptidation (peptidyl-transférase) transfère la méthionine sur le radical aminé libre de l'acide aminé AA, pour former la méthionine-AA. Une translocation déplace le ribosome le long de l'ARNm : le mét-AA-ARNt (le peptidyl-ARNt) occupe alors le site P et un autre codon occupe le site A. Un ARNt porteur d'un autre acide aminé (aa2) se fixe sur ce codon. Le peptide en cours de synthèse s'allonge par alternance de transpeptidation et de translocation. Un codon stop (UAA, UAG ou UGA) interrompt la synthèse.
- Le REG et le REL sont deux formes du RE qui diffèrent par la présence ou l'absence de ribosomes accolés aux membranes et l'aspect des cavités limitées (cisternes ou tubules). Les membranes du RE contiennent des enzymes (en rapport avec la synthèse protéique ou lipidique, la détoxification, le transfert des sucres). La membrane est asymétrique : la face luminale est limitée par des glycoprotéines ou des glycolipides, la face cytosolique contient des réductases.

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Hidden page

L'appareil de Golgi

- I. Structure de l'appareil de Golgi
- II. Rôle des microtubules dans l'intégrité de l'appareil de Golgi
- III. Le réseau cis de l'appareil de Golgi
- IV. Les saccules du dictyosome
- V. Le réseau trans de l'appareil de Golgi
- VI. Fonctions de l'appareil de Golgi
- VII. Biogenèse de l'appareil de Golgi
- VIII. L'exocytose

Pour Camillo Golgi, prix Nobel de médecine en 1906, les maladies mentales s'expliquent par des lésions organiques des cellules nerveuses. C'est pour cette raison qu'il entreprend l'étude des structures du système nerveux. Les techniques histologiques du XIX^e siècle permettent déjà de voir l'organisation cellulaire par coloration au carmin ou à l'hémaréine : mais ces colorants ne sont pas adaptés à l'étude des cellules nerveuses. Dans une cuisine transformée, il met au point des techniques d'imprégnation par des sels de métaux lourds. En 1873, il publie ses premiers résultats sur la découverte de la *reazione vera* (réaction noire) – l'imprégnation au nitrate d'argent – qui permet une meilleure compréhension des structures des cellules nerveuses. À Pavie, il crée un laboratoire au sein de l'Institut de pathologie générale. En 1898, il publie un article sur la mise en évidence de l'appareil réticulaire interne. Mais l'existence de ce compartiment cellulaire fut l'objet de nombreuses controverses : elles cessèrent en 1954, à la suite des travaux de Dalton et Felix qui publièrent les toutes premières photomicrographies électroniques de l'appareil de Golgi.

I. Structure de l'appareil de Golgi

A. Définition

L'appareil de Golgi est un organite, situé au voisinage du noyau, en position pérセントロсомale, constitué par des empilements de saccules aplatis, associés à de nombreuses vésicules qui assurent des fonctions essentielles :

- transport des molécules membranaires et des protéines solubles d'une face à l'autre de l'appareil de Golgi, assuré par des vésicules qui se forment par bourgeonnement de la membrane d'un saccule et fusionnent avec le saccule suivant ;
- modification des chaînes latérales des glucides des glycoprotéines membranaires par des enzymes associées à des couches spécifiques par des dispositifs d'ancrages transmembranaires, élaboration de chaînes glucidique, transport des protéines membranaires et solubles (ou sécrétoires) ;
- empaquetage des protéines sécrétées ;
- livraison des lipides et des protéines nécessaires à la formation des membranes lysosomales et plasmiques ;
- adressages des protéines.

B. Microscopie optique de l'appareil de Golgi

En microscopie optique, l'appareil de Golgi apparaît, dans les cellules animales, sous la forme d'un réseau irrégulier, variqueux, juxta ou périnucléaire colorable par réduction du nitrate d'argent, du tétroxyde d'osmium (fig. 17.1 et fig. 17.2).

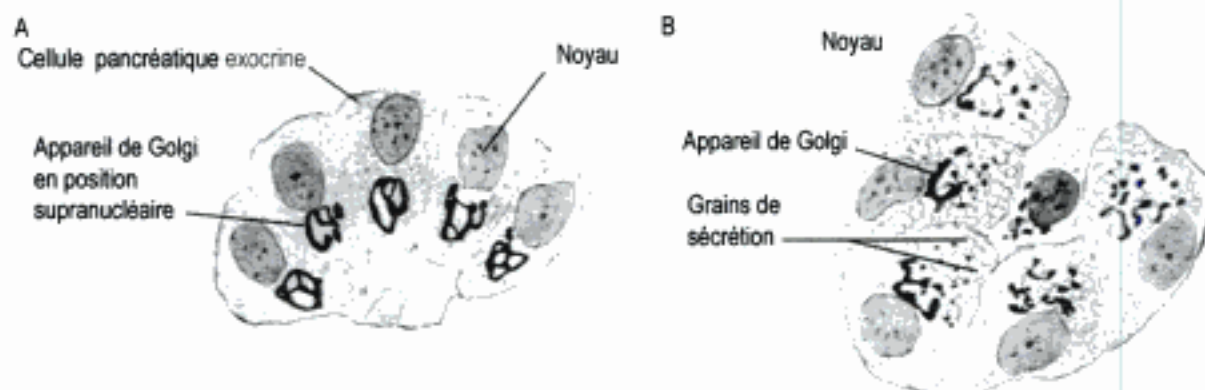


Fig. 17.1

Appareil de Golgi.

Acini pancréatique coloré par la technique de Golgi.

A. Cellule exocrine peu active absence de grains de sécrétion (zymogène).

B. Cellule exocrine riche en grains de sécrétion. Noter la différence de structure de l'appareil de Golgi.

Dessins de Ramon y Cajal.

Sa forme diffère non seulement d'une cellule à une autre, mais aussi dans la même cellule, car elle varie avec le cycle fonctionnel.

La taille est fonction du type et de l'activité de la cellule à laquelle il appartient. L'appareil de Golgi est volumineux dans les cellules glandulaires ou nerveuses ; il est petit dans les cellules musculaires, très développé dans les cellules en hyperactivité, peu développé dans les cellules au repos ou en hypoactivité.

Sa position pérircentrosomale dépend des microtubules et de la kinésine. Elle est relativement fixe pour chaque type cellulaire.

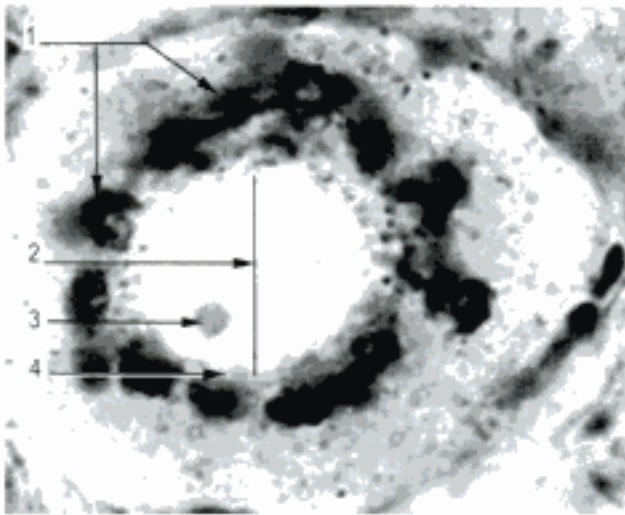


Fig. 17.2

Appareil de Golgi en microscopie optique.
Cellule ganglionnaire montrant la disposition périnucléaire de l'appareil de Golgi (coloration par la technique ZIO de Marc Maillet).

1. Appareil de Golgi. 2. Noyau.
3. Nucléole. 4. Enveloppe nucléaire.

C. Microscopie électronique de l'appareil de Golgi

1. Aspect général

La microscopie électronique montre que l'appareil de Golgi est constitué par un ou plusieurs dictyosomes qui sont des empilements de saccules aplatis (5 à 10 en moyenne), circulaires (1 à 3 μm de diamètre) disposés parallèlement les uns aux autres, légèrement concaves vers l'extérieur de la cellule. Le dictyosome possède deux faces, une face cis dite endoplasmique ou réceptrice en rapport avec le REG, et une face trans dite face exoplasmique, tournée vers la surface de la cellule. Des formations tubulo-vésiculaires interconnectées en rapport d'une part avec la face cis et d'autre part avec la face trans du dictyosome constituent le réseau cis et le réseau trans de l'appareil de Golgi (fig. 17.3 et 17.4).

Le dictyosome est compris entre le CGN et le TGN, l'ensemble (CGN, dictyosome, TGN) constituant l'appareil de Golgi.

Les sels d'osmium colorent sélectivement le réseau cis tandis que les techniques histochimiques de mise en évidence de la thiamine pyrophosphatase ne colorent que les saccules de la face trans. De tels résultats démontrent l'hétérogénéité ainsi qu'une orientation de l'appareil de Golgi dans la cellule.

2. Dictyosome

Au fur et à mesure que l'on s'éloigne du réticulum endoplasmique, on distingue les saccules cis, médian et trans.

Les saccules (de 3 à 10) en général, parfois plus dans les cellules très actives, sont associés à des vésicules et à des tubules. Les saccules de même nature, appartenant à des empilements voisins, sont associés par des tubules. L'ensemble de ces saccules constitue le ruban golgien situé à proximité du noyau.

Un espace, totalement dépourvu de ribosome ou de glycogène, d'une épaisseur de 10 à 15 nm, sépare chaque saccule.

Chaque empilement possède deux faces : une face proche du RE, la face réceptrice qui est qualifiée de face cis, et une face opposée, la face trans, qui exporte les molécules vers leurs différentes destinations. Cette face

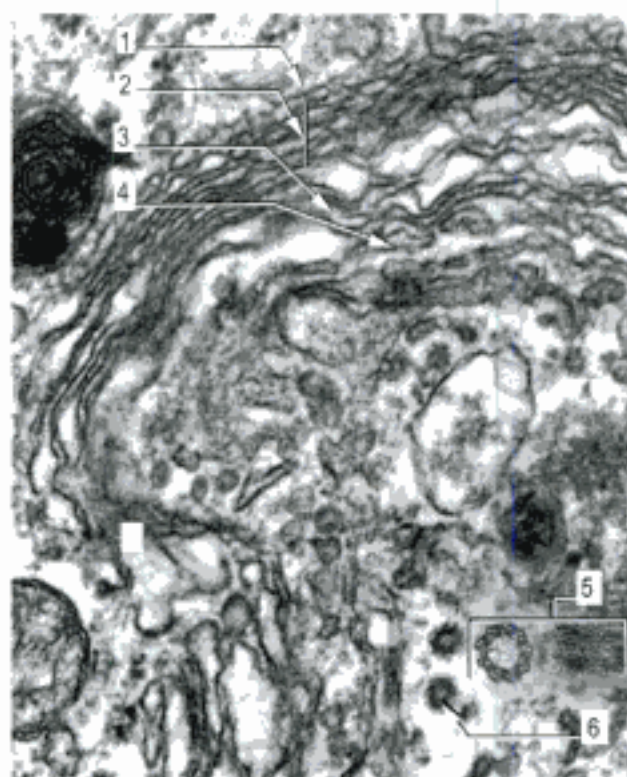


Fig. 17.3

Appareil de Golgi en MET.

1. CGN et saccule cis. 2. Citernes médianes. 3. Saccule cis. 4. TGN.
5. Centre cellulaire. Vésicule à clathrine transportant des hydrolases.

est tournée, dans les cellules excrétrices, vers les grains de sécrétion. La face cis est souvent légèrement convexe, la face trans souvent concave.

3. Vésicules golgiennes

Les vésicules golgiennes sont de petites vésicules rondes, d'un diamètre de 60 à 100 nm, situées à la périphérie des saccules. Deux catégories de vésicules existent au voisinage des empilements de saccules : des vésicules qui constituent la partie fenêtrée périphérique des saccules, et des vésicules qui proviennent du bourgeonnement du rebord des saccules. Ces vésicules interviennent dans le transport de substances à l'intérieur de l'appareil de Golgi.

4. Compartimentation fonctionnelle de l'appareil de Golgi

L'étude immunocytoologique de la répartition des enzymes de la glycosylation et les techniques de subfragmentation des membranes golgiennes permettent de distinguer trois compartiments dans les dictyosomes : le compartiment *cis* proche du REG, le compartiment *médian* et le compartiment *trans* ; chaque compartiment est constitué par un groupe de deux ou de plusieurs saccules. Aux trois compartiments du dictyosome, s'ajoutent des compartiments qualifiés de « compartiments frontières » (fig. 17.5) :

- le réseau cis-golgien ou CGN situé entre le REG et le compartiment *cis* ;
- le réseau trans-golgien ou TGN.

Hidden page

II. Rôle des microtubules dans l'intégrité de l'appareil de Golgi

A. Localisation de l'appareil de Golgi

Quel que soit le type cellulaire considéré, l'appareil de Golgi occupe une région proche du noyau et du centre cellulaire, entre le RE et la membrane plasmique. Pour un type cellulaire donné, l'appareil de Golgi occupe toujours la même place : il est en position supranucléaire dans les cellules polarisées, périnucléaire dans les neurones multipolaires, etc. L'appareil de Golgi est en rapport par sa face trans avec le centrosome. Des microtubules et des protéines associées aux MT, les MAP interviennent dans l'organisation et la disposition de l'appareil de Golgi, dans la formation des vésicules de transport entre les saccules et dans les déplacements membranaires désignés par les termes de flux membranaire.

B. Stabilisation par les microtubules

Les microtubules associés à des protéines motrices (principalement la kinésine) maintiennent la localisation, la forme et donc les fonctions du RE et de l'appareil de Golgi.

L'altération des MT par le nocodazole ou le taxol provoque une fragmentation des saccules en une multitude de petites vésicules, tandis que le RE vient occuper le centre de la cellule. Ces vésicules demeurent cependant fonctionnelles, mais elles ne peuvent assurer la voie de retour, c'est-à-dire le transport de substances entre le Golgi et le RE. Après élimination du nocodazole ou du taxol, les vésicules et les éléments dispersés de l'appareil de Golgi se regroupent, auprès du MTOC, le long des MT repolymérisés. Ces mouvements des vésicules en direction du MTOC dépendent d'une protéine motrice, la kinésine.

III. Le réseau cis de l'appareil de Golgi

A. Le CGN est-il un compartiment intermédiaire ?

Il existe entre le REG et l'appareil de Golgi un « compartiment intermédiaire » dont le degré d'hétérogénéité morphologique est fonction de la cellule. L'idée que le CGN soit un compartiment intermédiaire a été abandonnée. Il existe un compartiment intermédiaire dénommé ERGIC, ou PGI (*Pre Golgi Intermediate* ; intermédiaire pré-golgien), VTC (*Vesiculotubular Compartment* ; compartiment tubulovésiculaire) et enfin *salvage compartment*, qui est constitué par les agrégats vésiculaires provenant de la fusion des vésicules COP II issues du REG (voir chapitre 14, « Les agrégats tubulovésiculaires », p. 401).

B. Structure du CGN

Le CGN se colore fortement en noir par le tétraoxyde d'osmium (improprement appelé acide osmique). C'est cette partie de l'appareil de Golgi qui est colorée en noir en microscopie optique.

Il est constitué par des structures vésiculaires ou tubulovésiculaires anastomosées les unes avec les autres. Les reconstructions tridimensionnelles montrent que cette région est constituée par des tubules anastomosés en

Hidden page

IV. Les saccules du dictyosome

A. Saccules cis

Les saccules cis sont les saccules les plus proches du CGN. Ils possèdent une face convexe tournée vers le REG et une face concave orientée en général vers la surface cellulaire. Ils sont limités par une membrane qui a une épaisseur de 6 nm, très voisine de celle du REG. Tous les autres saccules de l'empilement auront approximativement la même forme et la même orientation.

Les saccules cis reçoivent les cargos transportés par des vésicules COP I provenant de la vésiculation du CGN.

Ils contiennent des transférases et des α -mannosidases I qui retirent trois résidus mannose au cours de la maturation des protéines N-glycosylées (fig. 17.7).

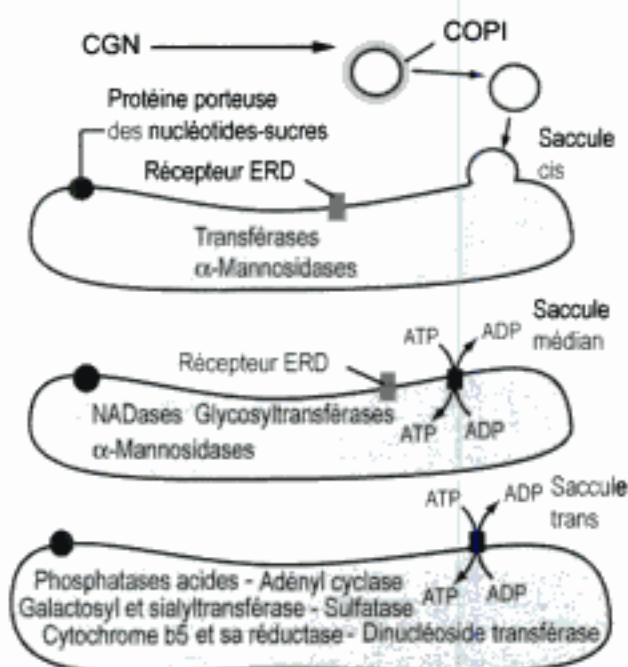


Fig. 17.7

Les saccules des dictyosomes.

Il délivre, au saccule voisin, les cargos (molécules) par vésiculation de la membrane de ses bords latéraux. Ces vésicules sont recouvertes de COP I, comme toutes les vésicules qui, de saccule en saccule, finiront par déverser leur contenu dans le TGN après avoir perdu leur revêtement.

B. Saccules médians

La région médiane des dictyosomes est occupée par un nombre variable de saccules. Le nombre des saccules dépend de la nature de l'activité de la cellule et également de l'intensité de son activité sécrétoire. Les saccules médians interviennent dans la transformation des produits qu'ils contiennent et assurent le transport des produits sécrétés jusqu'au saccule de la face trans.

Ils contiennent des NADases (nucléotide-adénine-dinucléotide-phosphatases), des glycosyltransférases, des α -mannosidases II.

Hidden page

Hidden page

Hidden page

3. Marquage des protéines par la leucine tritiée

Le marqueur utilisé dans cette expérience est la leucine tritiée. La leucine est un acide aminé qui participe à la synthèse des protéines enzymatiques élaborées par les cellules exocrines du pancréas. L'autoradiographie permet de suivre la ^3H leucine dans la cellule. Un film de gélatine photographique est déposé (en chambre noire) sur les coupes de tissu, où l'on souhaite pouvoir observer la localisation des molécules radioactives. L'émission de radiations réduit les sels d'argent en grains d'argent. Le comptage des grains d'argent permet une analyse semi-quantitative (cette technique est utilisée en microscopie optique et en microscopie électronique à transmission). Elle révèle que la leucine tritiée est incorporée dans le REG après 3 min d'incubation. Les saccules de l'appareil de Golgi sont marqués après 10 min et les grains de sécrétion après 40 min. Cent vingt minutes après l'injection, le marquage intéresse le produit excrété dans la cavité glandulaire. Au fur et à mesure que la radioactivité baisse dans le RE, elle s'accroît dans l'appareil de Golgi. Les grains de sécrétion augmentent progressivement en taille et récupèrent en dernier la radioactivité.

4. Transport intersacculaire des protéines

a. Les deux modèles : le modèle vésiculaire et le modèle de maturation des saccules

Le modèle de maturation des saccules admet que chaque citerne golgienne migre en direction centrifuge, c'est-à-dire vers la périphérie de la cellule. Une citerne cis devient médiane puis trans, et conserve tout au long de son parcours les protéines cargos. Cette migration s'accompagne d'une maturation du saccule. Les protéines résidentes des saccules retournent dans le saccule précédent grâce aux vésicules recouvertes de COP I qui se déplacent dans le sens trans \rightarrow cis.

Le modèle de transport vésiculaire admet que les citernes golgiennes ne se déplacent pas et que ce sont les vésicules golgiennes recouvertes de COP I qui assurent le transport des molécules cargos de saccule en saccule en se déplaçant dans la direction cis \rightarrow trans (fig. 17.9).

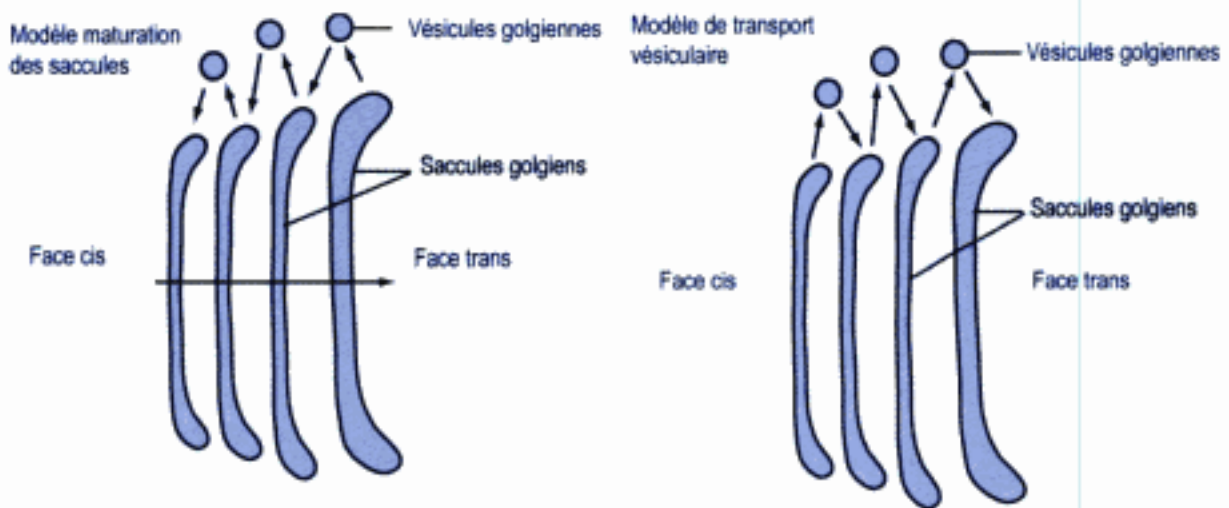


Fig. 17.9

Modèle de maturation des saccules et modèle de transport vésiculaire.

Une expérience récente apporte des arguments en faveur du modèle de maturation. Lors d'une infection par le virus de la stomatite, une glycoprotéine virale dont la synthèse est induite par le virus a servi de modèle. Lors de son transport par l'appareil de Golgi, cette protéine reste concentrée dans les saccules alors que les protéines résidentes se concentrent dans des vésicules périphériques recouvertes du manteau COP I.

Il existe pratiquement autant d'arguments pour chacun de ces deux modèles ; il est fort possible que les deux puissent coexister.

Les mécanismes dont la description suit se rapportent au modèle de transport vésiculaire.

b. Vésicules de transport

Les molécules, parvenues au CGN, sont ensuite transportées vers le saccule cis du dictyosome. Les molécules se déplacent de la face cis vers la face trans de l'appareil de Golgi grâce à des vésicules de transport recouvertes d'un manteau COP I dont la formation dépend de l'activité GTPasique de ARF. Les vésicules perdent leur manteau de COP I avant leur fusion avec la membrane du saccule suivant. L'acheminement des vésicules est séquentiel, c'est-à-dire qu'il se fait saccule par saccule, sans omettre un seul saccule. Leur cargo est déversé dans le saccule. Il est ensuite repris par une vésicule formée par bourgeonnement et transporté au saccule suivant. Ces vésicules se déplacent, d'une manière ordonnée, le long du chemin défini par des éléments du cytosquelette. La membrane de ces vésicules est asymétrique. Cette asymétrie débute dans le réticulum endoplasmique : elle persiste lorsque la membrane passe d'un saccule à un autre. Cette asymétrie de la membrane est conservée après fusion avec la membrane plasmique des vésicules émises par le TGN.

B. Synthèse des glycoprotéines et des protéoglycanes

1. Origine des précurseurs

Les nucléotides sucres utilisés dans les glycosylations proviennent du cytosol. Les membranes golgiennes possèdent des antiports qui permettent, aux nucléotides de sucre utilisés au cours de la glycosylation, de pénétrer dans les saccules. En effet, l'UDP-Gal (galactose lié à l'UDP) et CMP-NANA (NANA lié à CMP : cytosine monophosphate) sont synthétisés dans le cytosol. Ils peuvent pénétrer dans les saccules golgiens par l'intermédiaire d'antiports spécifiques. Par exemple, UDP-Gal cytosolique est échangé contre l'UMP. D'autres antiports assurent l'entrée de l'UDP-N-acétylglucosamine contre l'UMP.

2. Achèvement de la N-glycosylation

La maturation de la chaîne oligosaccharidique de la glycoprotéine commencée dans le REG se poursuit dans l'appareil de Golgi (fig. 17.10). Les glycoprotéines exportées du REG sont transportées par des vésicules COP II jusqu'au CGN. La partie oligosaccharidique liée à la protéine est constituée par huit mannoses et deux N-acétylglucosamines. La glycoprotéine passe de saccule en saccule grâce aux vésicules de transport COP I jusqu'au compartiment trans où s'achève la glycosylation (fig. 17.11). Dans le saccule cis, une mannosidase I enlève trois mannoses.

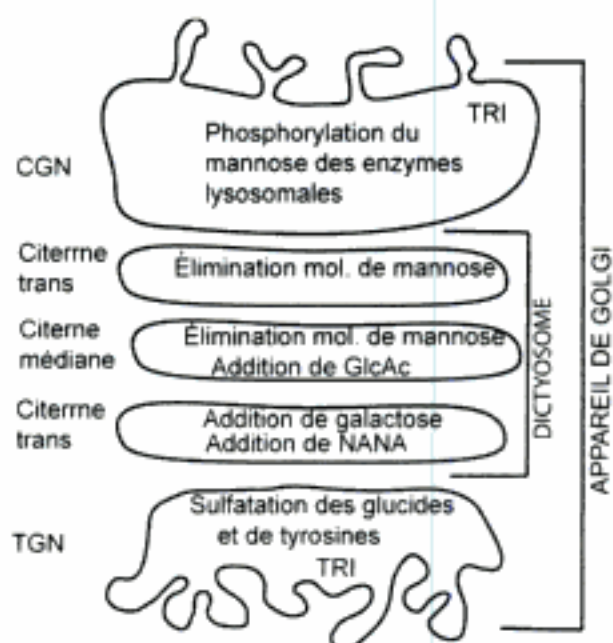


Fig. 17.10

Rôle des différents compartiments de l'appareil de Golgi au cours de la N-glycosylation.

D'après B. Alberts.

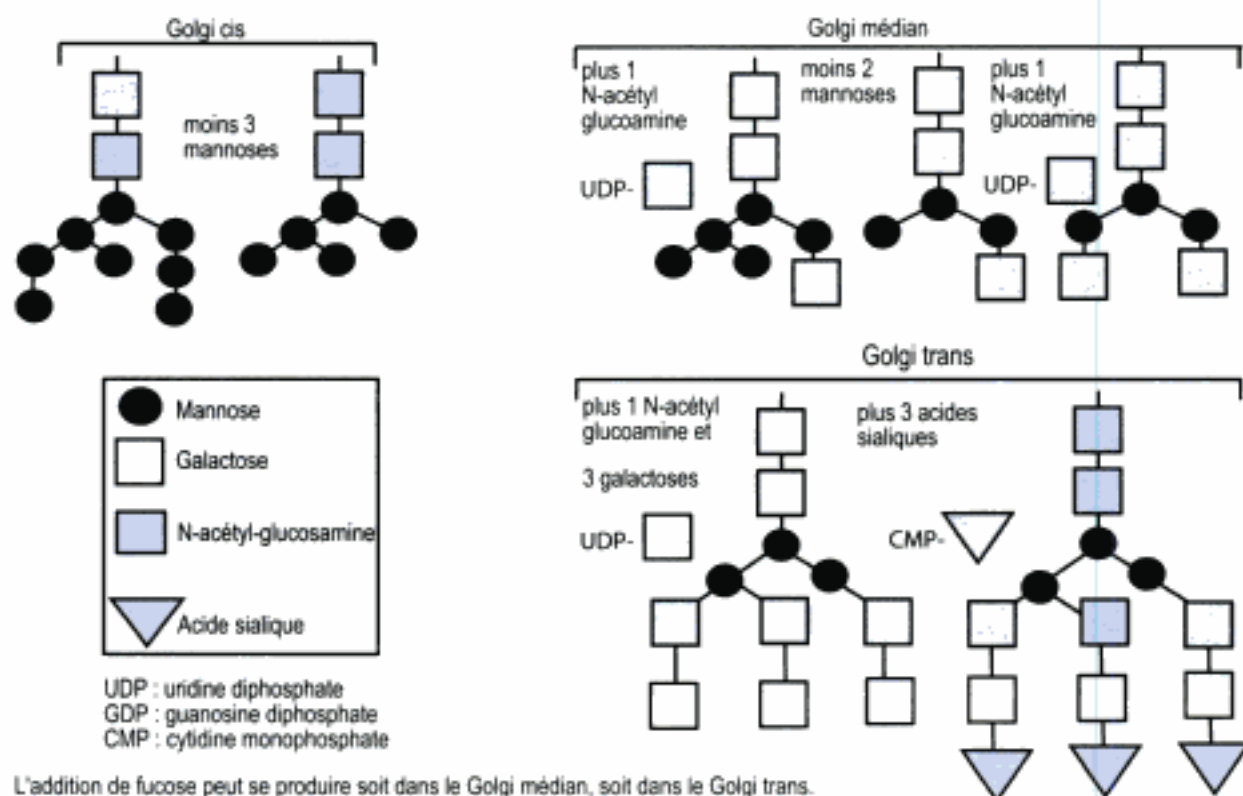


Fig. 17.11

Fin de la N-glycosylation dans l'appareil de Golgi.

La protéine à laquelle est liée cette fraction saccharidique n'est pas représentée : le fucose peut être ajouté dans le saccule médian le plus proche du saccule ou dans le saccule trans.

Dans le saccule médian, deux N-acétylglucosamines sont ajoutées par les N-acétylglucosamine transférases. Une mannosidase II élimine deux mannoses. Il s'est ainsi constitué une chaîne polysaccharidique comprenant deux N-acétylglucosamines associées à trois mannoses dont deux

sont chacun liés à une N-acétylglucosamine. Cette chaîne constitue un core à trois mannoses devenu résistant aux endoglycosidases présentes. Dans le compartiment trans et le réseau trans-golgien, des galactosyltransférases, fucosyltransférases et sialyltransférases ajouteront séquentiellement des molécules de galactose, de fucose et d'acide sialique.

3. Oligosaccharides liés à O

La O-glycosylation, au cours de laquelle intervient une série de glycosyltransférases, débute dans les saccules médians. Chaque glycosyltransférase, spécifique d'un sucre, ajoute un résidu glucidique à la fois à une protéine. Les nucléotides glucidiques, d'origine cytosolique, sont transportés dans la lumière de l'appareil de Golgi par les protéines porteuses de la membrane. L'ajout de N-acétylgalactosamine se fait en premier : une glycosyltransférase fixe le glucide sur l'oxygène d'un radical aminé de la sérine, ou de la thréonine, ou de l'hydroxylysine (collagène). Le premier sucre fixé est un tétrasaccharide (par exemple le xylose), auquel se combinent des résidus glucidiques (galactose, acide glucuronique), par action de glycosyltransférases spécifiques. Sur le dernier sucre se fixe une longue chaîne polymérisée de GAG puis un nombre variable de résidus glucidiques supplémentaires sont liés les uns après les autres (ceci uniquement pour les protéoglycanes). Après fixation du glucide, le nucléotide s'en sépare, perd son phosphate : le nucléotide et le phosphate regagnent le cytosol.

La O-glycosylation aboutit à la formation de glycoprotéines et de protéoglycanes. Les glycoprotéines sont caractérisées par le fait que la fraction glucidique ne dépasse jamais 50 à 60 % de la masse totale de la protéine. Les protéoglycanes sont les molécules les plus fortement glycosylées de l'appareil de Golgi : la fraction glucidique peut atteindre 95 % du poids moléculaire de la protéine. La fraction glycosylée de ces protéines est riche en charges négatives (une charge négative tous les 10 Å). Ces protéoglycanes peuvent soit rester ancrés à la membrane plasmique où ils constituent une partie du *cell coat*, soit être excrétés pour participer à la constitution de la matrice extracellulaire, soit entrer dans la constitution du mucus, une substance visqueuse protectrice de la surface des épithéliums intestinaux, respiratoires, etc.

4. Marquage des protéines lysosomales par M6P

L'appareil de Golgi intervient dans le marquage des protéines prélysosomales afin que leur adressage soit correct et dans la formation des vésicules à hydrolases destinées aux endosomes et aux lysosomes tardifs.

La partie oligosaccharidique des prohydrolases qui pénètrent dans le saccule cis est constituée par huit mannoses et deux N-acétylglucosamines. Le CGN contient des phosphotransférases (l'uridine-diphosphate-N-acétylglucosamine-1-phosphotransférase et GlcNAc-1-phosphodiester β -N-acétylglucosaminidase) qui interviennent dans la phosphorylation des chaînes oligosaccharidiques des prohydrolases (fig. 17.13).

Les précurseurs des hydrolases ne possèdent pas de séquences de reconnaissance : ce sont des acides aminés, dispersés à distance des chaînes oligosaccharidiques, qui permettent à l'uridine-diphosphate-N-acétylglucosamine-1-phosphotransférase ([UDP]-N-GlNAc-1-phosphotransférase) de reconnaître la prohydrolase.

■ Outre les N- et O-glycosylations, les protéines subissent au cours de leur traversée de l'appareil de Golgi des modifications qui sont schématiquement résumées dans la figure 17.12 et qui sont exposées plus loin.

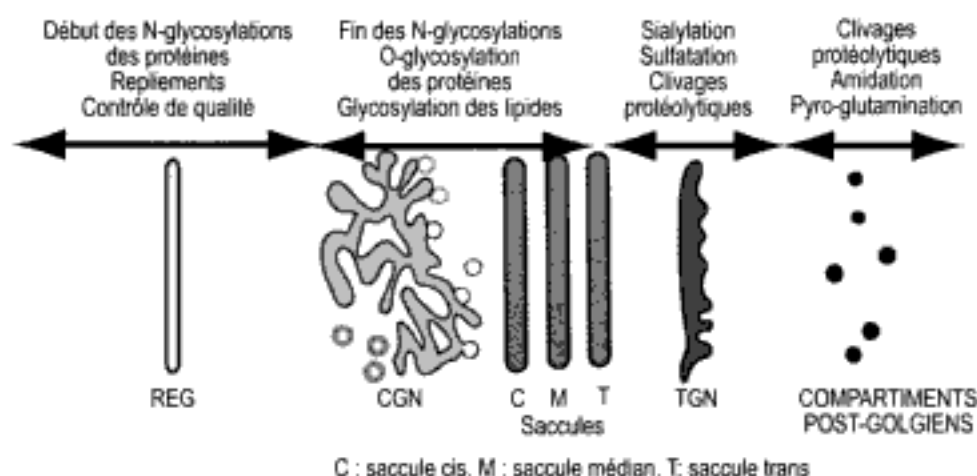


Fig. 17.12

Principales modifications des protéines au cours de leur passage dans l'appareil de Golgi.

D'après Tixier-Vidal A. *Médecine Science*, 2002, 10.

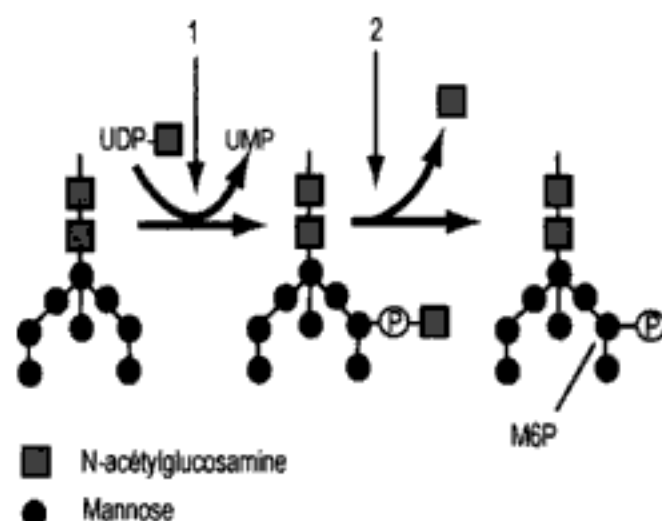


Fig. 17.13

Marquage des protéines lysosomales par le mannose-6-phosphate.

1. Uridine-diphosphate-N-acétylglucosamine-1-phosphotransférase.
2. GlcNAc-1-phosphodiester β-N-acétylglucosaminidase.

L'UDP-N-GlNAc-1-phosphotransférase ajoute un GlcNAc-phosphate en position 6 à un ou à plusieurs mannoses situés en position terminale sur les chaînes glycosylées. L'hydrolyse de la liaison GlcNAc-P par la GlcNAc-1-phosphodiester β-N-acétylglucosaminidase donne naissance ainsi aux mannoses 6-phosphates terminaux qui sont des signaux de reconnaissance des prohydrolases.

Les précurseurs des enzymes lysosomales, marqués par des groupes M6P dans le saccule de la face cis, sont isolés des autres protéines dans le saccule trans (fig. 17.14). Les bourgeonnements de la membrane du saccule trans sont recouverts de molécules de clathrine et, de plus, possèdent de nombreux récepteurs de M6P. Les vésicules, une fois formées, perdent leurs molécules de clathrine/adaptine avant de fusionner avec un endolysosome (compartiment intermédiaire) qui peut former soit un lysosome, soit un autophagolysosome ou un phagolysosome.

Dans les saccules médians, les précurseurs des hydrolases subissent une maturation au cours de leur progression vers le saccule trans. Les protéines lysosomales perdent, par action d'une mannosidase, un ou plusieurs résidus mannose. Les récepteurs de M6P (fig. 17.15), les M6P-R

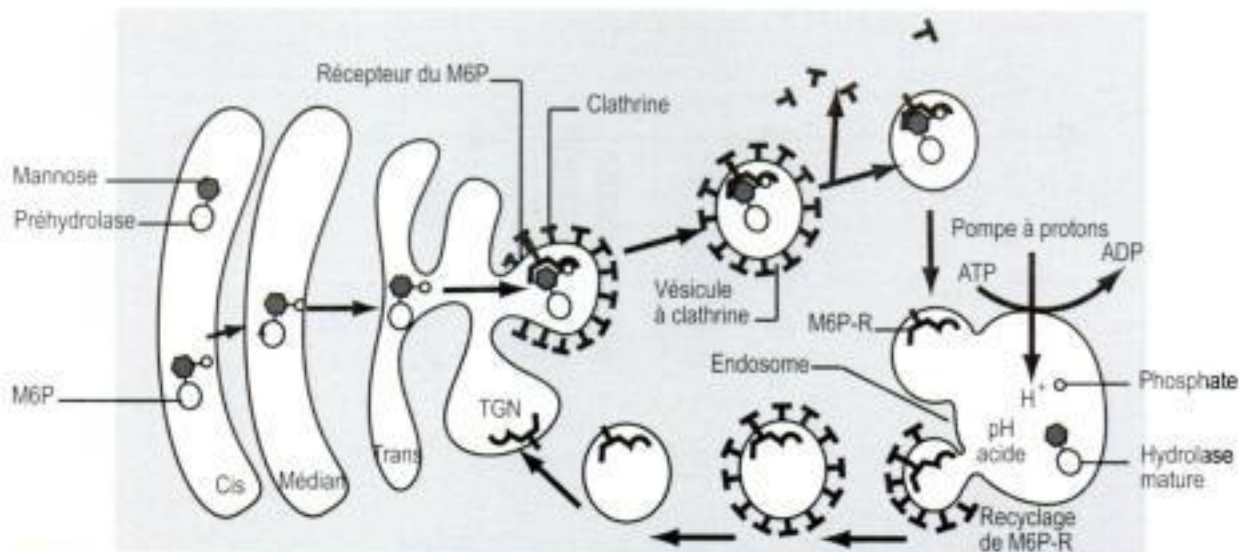


Fig. 17.14

Transport et tri des enzymes lysosomales.

La membrane du TGN contient des récepteurs du M6P. M6P se fixe sur les récepteurs. La membrane recouverte d'un manteau de clathrine/adaptine bourgeonne et forme une vésicule à clathrine transportant des hydrolases. La vésicule perd son manteau et fusionne avec un endosome soit au stade de corps multivésiculaire, soit au stade d'endosome tardif. Les récepteurs libèrent la protéine liée à M6P et le phosphate se détache du mannose. Les récepteurs sont recyclés en direction du TGN par des vésicules à clathrine qui se forment à partir de la membrane de l'endosome.

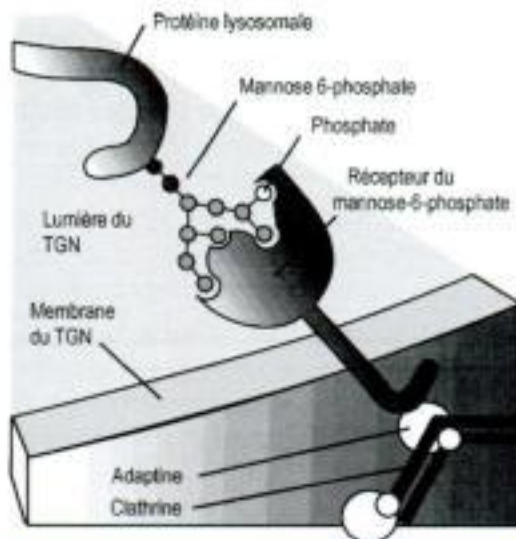


Fig. 17.15

TGN et récepteurs M6P-R.

(des lectines) situés dans la membrane du TGN, se regroupent, reconnaissent les hydrolases et les capturent.

Ces récepteurs sont clathrine-dépendants. Des molécules de clathrine recouvrent les zones membranaires qui se vésiculisent. Les vésicules de transport des hydrolases fusionnent avec les phagosomes ou les endosomes tardifs après avoir perdu leur revêtement de clathrine. Les enzymes lysosomales se dissocient des M6P-R.

Les M6P-R incorporés dans la membrane de l'endosome ou du phagosome se regroupent en zones membranaires : ces zones sont alors recouvertes par des molécules d'adaptine et de clathrine, bourgeonnent et forment des vésicules qui ne transportent plus que les M6P-R. Ces vési-

Hidden page

digestives) est synthétisée sous la forme d'un volumineux précurseur. Pour être active, elle subit un clivage endoprotéolytique qui dépend d'une prohormone convertase. Les enképhalines, le glucagon, l'hormone parathyroïdienne subissent des transformations comparables.

E. Fonction de tri

1. Contrôle du retour des protéines résidentes du REG

Le CGN possède essentiellement une fonction de tri qui dépend des séquences d'adressage des protéines. Il possède, dans ses membranes, des récepteurs ERD qui reconnaissent les protéines porteuses des signaux de rétention dans le RE. La fixation du ligand (protéine porteuse de KdEL) sur ERD dépend du pH. Un pH de 5 est optimum pour une telle fixation (plus les saccules golgiens sont proches du CGN, plus leur contenu est acide). Les récepteurs ERD contiennent, en plus du signal d'adressage et de rétention pour l'appareil de Golgi, un signal d'adressage et de rétention pour le RE (séquence KKXX ; lysine-lysine, X représentant un acide aminé quelconque). La liaison du récepteur ERD avec la protéine porteuse de KdEL autorise l'assemblage d'un revêtement COP I. La protéine porteuse du signal KdEL est reconduite dans une vésicule COP I, formée par le bourgeonnement de la membrane du CGN. ERD, après avoir délivré son ligand dans la lumière du RE, regagne, grâce à une vésicule COP II, la membrane du compartiment cis.

2. Signaux d'adressage des molécules à trier

La membrane du TGN contient, sur sa face luminale, des récepteurs des substances à transporter (cargos) : leur site de liaison est tourné vers la lumière du compartiment golgien. Le choix et l'incorporation des cargos, dans les futures vésicules, dépendent des signaux d'adressage des vésicules. Les composants du revêtement des vésicules, en cours de formation, interagissent avec les signaux des récepteurs des cargos. Par exemple, les récepteurs des prohydrolases possèdent une séquence YSKV (tyrosine-sérine-lysine-valine) située dans leur domaine cytosolique, qui reconnaît le signal d'adressage M6P. L'adaptine interagit avec la séquence YSKV et capture les récepteurs transmembranaires déjà liés, ou qui se lieront spécifiquement aux prohydrolases. Les molécules marquées par M6P sont donc triées vers les territoires recouverts par les complexes clathrine/adaptine.

Les glycoprotéines membranaires Lamp (*Lysosome-associated membrane glycoprotein* : glycoprotéine membranaire associée au lysosome) sont

3. Fonction de tri du TGN

Le TGN est une région où s'effectue le tri des molécules synthétisées par la cellule. Une cellule à sécrétion exocrine, comme les cellules pancréatiques, synthétise des enzymes protéolytiques (trypsinogène, chymotrypsinogène), des enzymes lipolytiques (lipase), de l'amylase, qui sont déversées dans la cavité duodénale. Mais, elles synthétisent aussi des hydrolases destinées aux lysosomes. En fonction de leur destination digestive ou lysosomale, les enzymes sont séparées et conditionnées dans des vésicules différentes. Cela n'est réalisable que dans la mesure où la membrane du TGN contient d'une part des récepteurs pour les molécules qu'il trie et d'autre part des molécules permettant l'adressage des vésicules vers une membrane cible, la membrane plasmique pour les substances excrétées ou la membrane endosomale ou lysosomale pour les hydrolases.

F. Exportation des protéines

Voir chapitre 14, « Les voies suivies par les vésicules de transport », p. 404.

1. Voies de l'exocytose

À partir du TGN, l'exportation vers la membrane plasmique se fait selon deux voies bien distinctes : la voie de la sécrétion contrôlée et la voie de la sécrétion constitutive. La première assure le transport des molécules par des vésicules à clathrine et la deuxième par des vésicules à coatomères COP I. Il existe également une voie de découverte récente, celle des vésicules à cavéoline qui intervient dans la formation des rafts.

2. Nature des vésicules formées dans le TGN

Trois types de vésicules (fig. 17.16), dont le déplacement dépend des MAP motrices, naissent par bourgeonnement du TGN.

a. Vésicules à clathrine

Ces vésicules appartiennent à la voie de la sécrétion contrôlée ou régulée qui est un mode sélectif de sécrétion. La sécrétion est déclenchée par des signaux. Les produits à excréter sont temporairement stockés dans des vésicules.

Ces vésicules sont :

- soit des grains de sécrétion d'un diamètre de 40 à 80 nm ; ces vésicules migrent vers la membrane plasmique, où leur contenu est excrété dans le milieu extracellulaire par exocytose ;
- soit des vésicules de transport qui se dirigent vers les endosomes ou vers les lysosomes, avec lesquels elles fusionnent.

b. Vésicules à coatomères

Ces vésicules appartiennent à la voie de la sécrétion constitutive : les produits synthétisés sont excrétés d'une manière permanente, sans stockage préalable. Cette voie constitutive est une voie par défaut : dès leur synthèse, les protéines sont orientées vers l'excrétion. Elles ne sont ni stockées ni triées : elles sont transportées « en vrac ».

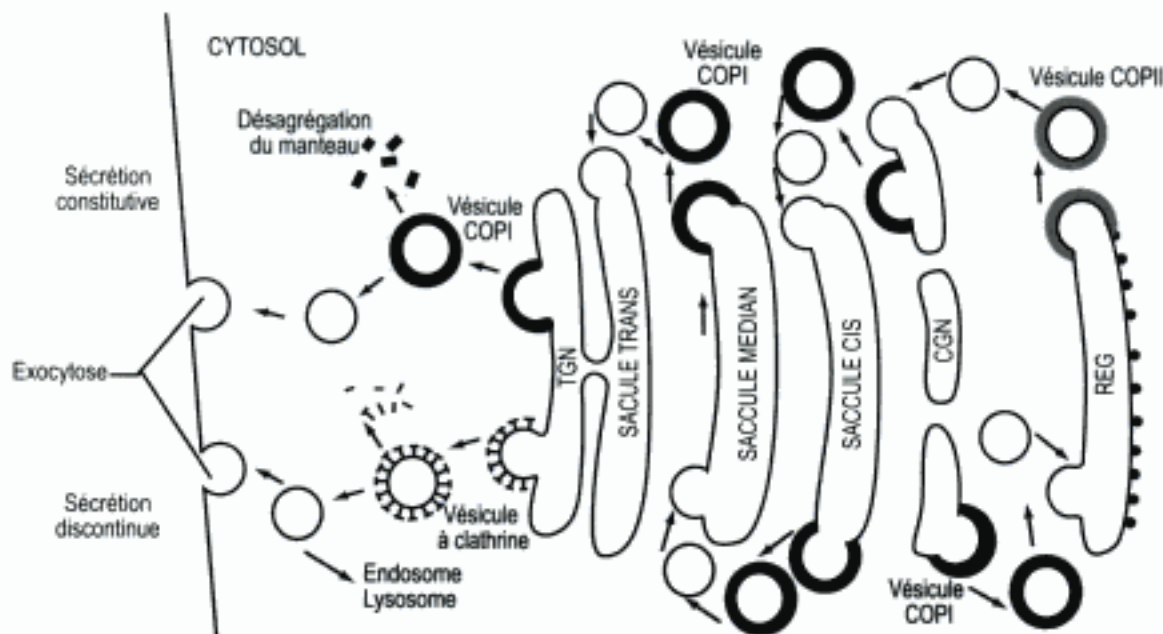


Fig. 17.16

La sécrétion constitutive et la sécrétion contrôlée.

Seules les vésicules à coatomère et à clathrine sont représentées. Le contenu des vésicules à cavéoline (de découverte récente) est mal connu. Pour la formation des vésicules sécrétoires, voir les figures 14.16 et 14.17.

c. Vésicules à cavéoline

Ces vésicules se forment à partir d'une région de la membrane du TGN particulièrement riche en glycoprotéines liées par un GPI, en sphingolipides et en cholestérol. La cavéoline est une molécule insérée dans l'épaisseur de la membrane qu'elle ne traverse pas : elle y décrit simplement une boucle. Ses extrémités N- et C-terminales sont situées sur la face cytosolique. La cavéoline est ancrée dans la face cytosolique par un acide gras fixé sur l'extrémité C-terminale située dans le cytoplasme. La cavéoline n'est pas éliminée au cours du trajet qui sépare la vésicule de la membrane plasmique. Ces vésicules gagnent la membrane plasmique où leur membrane s'insère par exocytose et forme les rafts.

3. Séquences d'adressage des vésicules

Ce sont des séquences d'acides aminés qui permettent aux vésicules d'être reconnues par le compartiment cible. Elles sont situées sur la face cytosolique de la membrane du TGN. Elles appartiennent à des récepteurs membranaires localisés dans des sites appropriés d'exportation qui formeront des vésicules destinées à une région déterminée de la cellule.

G. Stockage du calcium

Comme d'autres organites (la mitochondrie, le réticulum endoplasmique), les saccules golgiens sont capables de stocker le calcium, ce qui est important, car le calcium est un messager cytosolique ubiquitaire intervenant, chez les eucaryotes, dans de nombreuses voies de transduction de signaux.

La concentration du calcium dans une cellule non excitée est de 100 nM alors que la concentration extracellulaire est de 1,5 mM. La

■ Le TGN oriente ainsi les cargos (protéines transportées) vers différentes voies : la voie de la sécrétion constitutive, la voie de la sécrétion contrôlée (ou régulée) et la voie endosomale/lysosomale. Chacune de ces voies correspond à un flux membranaire centrifuge, qui se fait depuis le RE, à travers l'appareil de Golgi, en direction soit de la membrane plasmique (voies de la sécrétion constitutive et de la sécrétion contrôlée), soit des lysosomes, des phagosomes et des endosomes (voie endosomale/lysosomale).

membrane renferme un échangeur sodium-calcium : le gradient de Na^+ fournit l'énergie nécessaire au stockage du calcium. Une protéine intra-sacculaire fixe les ions calcium dans la lumière. Une Ca^{2+} -ATPase, de la classe des transporteurs ATPases ions-motrices de type P (P pour phosphorylé), est localisée dans la membrane des saccules : elle pompe le calcium hors des saccules. Pour chacune des molécules d'ATP hydrolysées par la Ca^{2+} -ATPase, deux Ca^{2+} sont transportés. Un système identique fonctionne de la même manière dans le réticulum endoplasmique.

H. Formation des vacuoles de macro-autophagie

Les vacuoles de macro-autophagie se forment par encerclement d'un territoire cytoplasmique à détruire par une citerne membranaire. L'origine de cette citerne est discutée. Elle proviendrait soit du réticulum endoplasmique lisse, soit des endosomes, soit du TGN. Les arguments en faveur d'une participation des endosomes ou du TGN sont intéressants à souligner : les membranes de ces deux structures contiennent non seulement des signaux de fusion avec les vésicules à hydrolases, mais aussi une pompe à protons intramembranaire (ATPase à protons, H^+ -ATPase) qui acidifie son contenu et des molécules de phosphatase acide considérées encore comme un marqueur des lysosomes.

On admet actuellement que plusieurs compartiments cellulaires (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi et réseau trans-golgien) concourent à la formation de l'autophagosome. Il a été démontré récemment que la protéine Arg6 (*Autophagy related gene* ; gène lié à l'autophagie) qui interagit avec la phosphatidylinositol 3-phosphate kinase (PI3K) de type III sur la membrane du réseau trans-golgien est nécessaire à la formation de l'autophagosome, de même que le phosphatidylinositol 3-phosphate (PtdIns3P).

I. Synthèse et glycosylation des lipides

1. Synthèse des lipides

La membrane des saccules cis et trans est le lieu de synthèse des sphingolipides selon un mécanisme voisin de celui qui se déroule dans le réticulum endoplasmique. Dans le RE, les acides gras activés par le CoA, le glycérol lié à un phosphate, proviennent du cytosol. Ils s'insèrent séparément dans le feuillet cytosolique. Après insertion, les acides gras libèrent CoA et le glycérol demeure sous forme d'acide phosphatidique.

L'étude de l'incorporation de la choline marquée par le ^{14}C démontre que le ^{14}C est incorporé dans les phosphatidylcholines situées dans les membranes de l'appareil de Golgi.

La molécule de glycérophosphate, dans le feuillet cytosolique de la membrane des saccules golgiens, se combine avec deux acides gras pour former un diacylglycérol-3-phosphatide. Les molécules de cytosine diphosphate d'origine cytosolique (liées soit à la choline, soit à la sérine, soit à l'éthanolamine) associent ces molécules de diacylglycérol-3-phosphate formant ainsi des phospholipides. Ces phospholipides passent dans le feuillet interne par un mouvement de flip-flop. La glycosylation des phospholipides aboutit à la formation des sphingolipides qui entrent dans la constitution de la membrane plasmique.

Hidden page

En métaphase, ces amas, dont le nombre est constant pour un type de cellule donnée (approximativement 300 pour une cellule Hela : Helen Lane), sont constitués par des tubules de 17 à 250 nm de longueur et par des vésicules (50 à 70 nm de diamètre) recouvertes de COP I, dépourvues de marqueurs du RE. Ces amas sont répartis de manière ordonnée par les microtubules polaires du fuseau mitotique.

2. Disparition temporaire de l'appareil de Golgi

D'autres expériences suggèrent que la reconstitution de l'appareil de Golgi dépend entièrement du RE. Un marqueur des saccules trans de l'appareil de Golgi est associé à GFP, un colorant fluorescent. L'étude *in vitro*, en microscopie confocale, des cellules en culture, démontre une dispersion presque totale de la fluorescence. Le marqueur est retrouvé dans un très vaste compartiment dispersé qui est probablement le RE. Le blocage de la production des vésicules COP II par l'expression de la GTPase Sar1 mutée inhibe la reconstitution du Golgi.

Ces deux modèles sont contradictoires. Cependant, un certain nombre de biologistes pensent que ces deux modèles pourraient coexister.

B. Réassemblage de l'appareil de Golgi

Le réassemblage de l'appareil de Golgi se fait soit par fusion des amas mitotiques qui reconstitue progressivement l'appareil de Golgi, soit par néoformation. Dans ce cas, la citerne golgienne bourgeonne et donne naissance à des vésicules recouvertes de COP II qui fusionnent afin de former des saccules. Ces saccules s'empilent en direction du centre cellulaire, les microtubules guidant cette réorganisation.

VIII. L'exocytose

L'exocytose est le mécanisme d'excrétion des molécules élaborées par les cellules eucaryotes. Les composés synthétisés sont enfermés dans une vésicule (grain de sécrétion) qui provient du bourgeonnement de la membrane du réseau trans-golgien. Le cytosquelette et en particulier le cytosquelette cortical participe à l'exocytose. La membrane des grains de sécrétion fusionne avec la membrane plasmique. L'ouverture du grain de sécrétion se produit au niveau du point de fusion des deux membranes et le contenu est libéré dans le milieu extracellulaire.

L'exocytose peut être

- continue et constitutive : les vésicules sont alors recouvertes de COP ;
- induite : les vésicules sont recouvertes de clathrine.
- voir chapitre 14, « Voie biosynthétique et sécrétoire », p. 404.

Hidden page

Hidden page

12. Les modifications des prohydrolases dans l'appareil de Golgi

- ☐ A. La phosphorylation des mannoses des enzymes lysosomales se fait en une seule étape.
- ☐ B. Le marquage des enzymes lysosomales se fait dans les saccules cis.
- ☐ C. Le marquage des enzymes lysosomales nécessite la reconnaissance de quatre acides aminés successifs.
- ☐ D. L'élimination de mannose est un processus de maturation des hydrolases.
- ☐ E. Les récepteurs au mannose 6-phosphate sont présents uniquement au niveau du TGN.

13. Le TGN

- ☐ A. N'a aucune activité enzymatique.
- ☐ B. Produit des vésicules à clathrine.
- ☐ C. Produit des vésicules à cavéoline.
- ☐ D. Se caractérise par des récepteurs au mannose 6-phosphate.
- ☐ E. Contient une pompe à protons ATP-dépendante.

14. Le TGN envoie des vésicules vers

- ☐ A. La membrane plasmique.
- ☐ B. Les endosomes.
- ☐ C. Les peroxysomes.
- ☐ D. L'enveloppe nucléaire.
- ☐ E. Le réticulum lisse.

QROC

1. Donner le schéma général de l'appareil de Golgi.
2. Décrire l'organisation un dictyosome.
3. À quel type de réseau cytosquelettique l'appareil de Golgi est-il associé ?
4. Qu'appelle-t-on le transport antérograde ?
5. Comment différencie-t-on les vésicules COP I et COP II ?
6. Quelle technique a permis de mettre en évidence le flux des molécules au travers de l'appareil de Golgi ?
7. Sous quelle forme moléculaire les sucres arrivent-ils dans la lumière du Golgi ?
8. Citer deux types d'antiport golgien.
9. Comment se met en place la phosphorylation des enzymes lysosomales (sans donner les noms exacts des molécules) ?
10. Qu'appelle-t-on prohormone convertase ?
11. Quelles sont les destinations possibles des vésicules bourgeonnant à partir TGN ?

Pour les corrections, se reporter à la page 589

Les lysosomes

- I. Définition**
- II. Morphologie**
- III. Répartition**
- IV. Composition biochimique**
- V. Biogenèse des lysosomes**
- VI. Les compartiments cibles des vésicules à hydrolases**
- VII. Modes de fonctionnement des lysosomes**
- VIII. Les corps résiduels**
- IX. Fonctions des lysosomes**
- X. Les maladies lysosomales**

En 1949, De Duve et ses collaborateurs étudiaient les activités enzymatiques des différentes fractions obtenues par ultracentrifugation de cellules homogénéisées. Ils notèrent que l'activité phosphatase acide de la fraction mitochondriale augmentait si elle était soumise au traitement qui détériore les organites (eau distillée, détergents, agitation mécanique violente, etc.). Ils émirent l'hypothèse que ces enzymes étaient ségréguées dans un organite et que les enzymes n'étaient libérées que lorsque leur membrane était lésée. Il était extrêmement difficile de démontrer, en microscopie électronique, l'existence de ces particules. Cependant, en 1955, Novikoff mit au point une technique de coloration des phosphatases acides en microscopie électronique et découvrit, dans le foie de rat, les organites contenant ces enzymes. Les particules identifiées, très hétéromorphes, contenaient des enzymes regroupant des enzymes lytiques, d'où le nom de lysosomes qui leur fut donné.

I. Définition

Les lysosomes sont des organites, limités par une simple membrane, qui contiennent une matrice riche en enzymes hydrolytiques, les hydrolases, dont le pH fonctionnel très bas est d'environ 4,6 et qui dégradent par hydrolyse les molécules internalisées par la cellule.

II. Morphologie

L'aspect hétérogène des lysosomes reflète la grande diversité des matériaux qu'ils digèrent. Cette variabilité d'aspect des lysosomes s'observe facilement dans les macrophages en activité parce que chacun d'eux contient un millier de lysosomes. En culture, les lysosomes des macrophages en cours de différenciation ont la forme de *tubules* disposés en réseau. Ils deviennent *sphériques* lorsque les macrophages sont devenus aptes à phagocyter (fig. 18.1).

La diversité de la forme des lysosomes est également fonction de leur contenu : ils peuvent être sphériques ou avoir des formes très irrégulières et une matrice dont l'opacité dépend de la nature de la cellule considérée et de son activité.

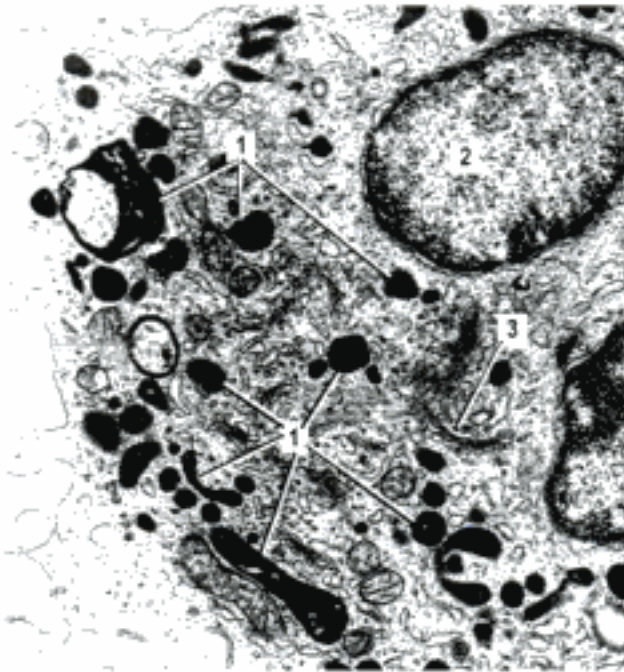


Fig. 18.1

Diversité de forme des lysosomes.

1. Lysosomes. 2. Noyau. 3. Appareil de Golgi.

Leur *taille* varie également en fonction de leur contenu. Ainsi, à proximité de l'appareil de Golgi, on peut observer des vésicules de 25 à 50 nm de diamètre. Ces structures sont des *vésicules à hydrolases* qui assurent le transport des hydrolases : leur membrane est recouverte d'un manteau de clathrine. La taille moyenne des lysosomes, dans les cellules hépatiques, est de 0,5 μm . Dans les cellules des tubes contournés proximaux, les lysosomes atteignent 6 μm environ et plus.

La *reconnaissance morphologique* des lysosomes est parfois difficile : les techniques histochimiques qui révèlent les *marqueurs membranaires*, la phosphatase acide et surtout Lamp-1 et 2 ou le marqueur du contenu lysosomal (cathepsine L) permettent de les identifier.

III. Répartition

Les lysosomes existent dans pratiquement toutes les cellules eucaryotes à l'exception des hématies : ils existent également chez les protozoaires ou les protophytes.

Classification des lysosomes

► Dans l'ancienne classification, les lysosomes étaient désignés par les termes de *lysosomes primaires* (organites qui proviennent du TGN) : ils renferment des enzymes fabriquées par le REG mais qui ne sont pas encore engagées dans des activités digestives) et *lysosomes secondaires* qui proviennent de la fusion d'un lysosome primaire soit avec une vacuole d'endocytose, soit avec une vacuole de phagocytose, soit avec une vacuole d'autophagie.

► Une classification plus moderne ne tient pas compte de ces lysosomes primaires dont l'existence est discutée. Elle introduit les termes « vésicules à hydrolases » pour désigner les lysosomes primaires et « endolysosomes » pour désigner les lysosomes secondaires. Les *endolysosomes* regroupent les *hétérolysosomes* et les *phagolysosomes* qui dégradent les matériaux d'origine extracellulaire et les *autophagolysosomes* qui lysent les structures de leur propre cellule.

► Les endosomes, contenant les produits ayant pénétré dans la cellule par endocytose, fusionnent avec les vésicules hydrolases, pour former les *endolysosomes*. Les organites cellulaires détruits s'entourent d'une membrane provenant du TGN pour former un *autophagosome* qui, par fusion avec un *endolysosome* ou un *lysosome*, aboutit à la formation d'un *autophagolysosome*. Dans les cellules phagocytaires, les phagosomes (vésicule contenant des déchets ou une bactérie) sont transformés en *phagolysosomes* par association avec un *lysosome* ou un *endolysosome*.

Leur nombre varie considérablement d'un type cellulaire à un autre : il dépend des fonctions de la cellule. Ils sont nombreux dans les *macrophages* et les *polynucléaires* qui interviennent dans la défense de l'organisme. Dans les *hépatocytes*, les lysosomes, de taille variable, sont moins nombreux : certains contiennent de la lipofuscine et des lipoprotéines disposées en lamelles, des mitochondries, etc. Ils se regroupent près de la surface canaliculaire.

Les cellules des *tubes contournés des reins* contiennent d'assez nombreux lysosomes : ils lysent les acides aminés, qui diffusent à travers la membrane, et les protéines de bas poids moléculaires qui pénètrent par une endocytose située au fond des invaginations intermicrovillositaires. Ils sont beaucoup moins nombreux dans les autres types cellulaires.

IV. Composition biochimique

A. Membrane lysosomale (fig. 18.2)

1. Protéines

La membrane lysosomale est riche en protéines transmembranaires. Elle contient une trentaine de glycoprotéines (PM compris entre 20 et 200 kDa) dont les sucres sont exposés aux hydrolases : elles protègent la membrane lysosomale contre les enzymes, le pH acide et plus particulièrement les protéases.

Certaines glycoprotéines très fortement glycosylées, comme *Lamp-1*, *Lamp-2* (ou *Lgp96*) qui sont des éléments constants et spécifiques des lysosomes : *Lamp-1* et *2* sont des *marqueurs* de la membrane des lysosomes. Les *Lamp-1* et *2* possèdent une courte queue cytosolique, un seul segment transmembranaire, un segment cytosolique, porteur de 18 sites de N-glycosylation : l'extrémité cytosolique est C-terminale.

■ L'importance de la glycosylation des protéines membranaires lysosomales est facilement mise en évidence par l'utilisation d'un antibiotique, la *tunamycine*, qui bloque la glycosylation : la demi-vie des lysosomes diminue alors d'une manière très importante.

La membrane lysosomale contient également :

- des *protéines acides* de type I, porteuses de chaîne N-osidiques, ce sont les plus nombreuses. Leur extrémité C-terminale est cytoplasmique : elles sont porteuses de séquences aminées de tri. Ces séquences sont reconnues par les molécules d'adaptines AP1 ou AP2 permettant ainsi la formation des vésicules de transport des hydrolases à partir du TGN et leur ciblage vers les endosomes/lysosomes ;
- des *phosphatases acides*, glycoprotéines dont une partie est transmembranaire : la partie active de ces molécules est située dans la lumière du lysosome ;
- des *pompes V à protons* (H^+ -ATPase, V = vacuolaire) qui maintiennent le pH acide (entre 4 et 5). Il s'agit de molécules de 250 kDa, dont le fonctionnement est ATP et Mg^{++} -dépendant. Les pompes V sont localisées également dans la membrane des grains de sécrétion. Elles utilisent l'énergie de l'ATP sans former d'intermédiaires protéiques phosphorylés. Les pompes transportent les ions H^+ du cytosol vers la lumière lysosomale. Ces pompes à protons ne sont pas comparables à la pompe Na^+/K^+ de la membrane plasmique : en effet, elles sont insensibles aux inhibiteurs de la Na^+/K^+ -ATPase (oligomycine, ouabaine, vanadate) ;
- des *perméases* responsables de l'exportation des molécules produites par la dégradation enzymatique (fig. 18.2) ;

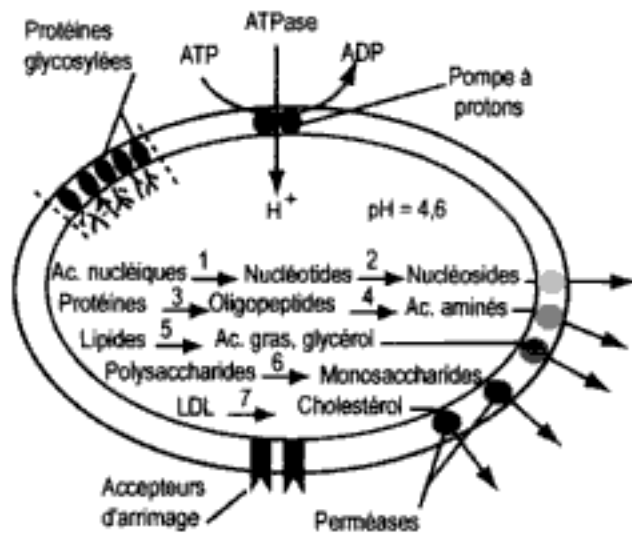


Fig. 18.2
Lysosome : structure schématique de la membrane du lysosome.
Les principales fonctions hydrolytiques sont résumées dans ce schéma. 1. Nucléases. 2. Phosphatases. 3. Protéases. 4. Peptidases. 5. Lipases. 6. Glycosidases. 7. Hydrolases.

- des *protéines ABC* (*ATP Binding Cassette* ; boîte de liaison à l'adénosine triphosphate), transmembranaires, qui interviennent dans l'importation dans la matrice des protéines d'origine cytosolique. Ces protéines possèdent 12 hélices α transmembranaires, qui peuvent transporter des produits extrêmement variés (peptides, ions, molécules organiques). Les protéines ubiquitinylées, dégradées partiellement par les protéasomes et porteuses d'une séquence d'adressage KFERQ (K : lysine ; F : phénylalanine ; E : acide glutamique ; R : arginine ; Q : glutamine) reconnues par les protéines appartenant à la famille ABC, peuvent pénétrer dans les lysosomes par l'intermédiaire des protéines porteuses. Les protéines ABC, appelées aussi ATPases de trafic, fonctionnent comme des transporteurs ATP-dépendants pour pomper des molécules spécifiques du cytosol et leur faire traverser la membrane des lysosomes. Ainsi,

Hidden page

Hidden page

B. Formation des vésicules à hydrolases

Les *prohydrolases* sont transportées dans l'appareil de Golgi jusqu'au réseau transgolgien. Le TGN contient, dans ses membranes, des *récepteurs du M6P*. Les enzymes lysosomales se fixent sur le domaine endoluminal du *M6P-R*. Ces récepteurs interagissent également avec les *adaptines* : un *manteau de clathrine* se forme. La membrane du TGN, qui contient les complexes récepteurs/enzymes lysosomales, bourgeonne, se vésiculise pour donner naissance à des vésicules à clathrine qui transportent les hydrolases. Les *vésicules à hydrolases* perdent rapidement leur manteau de clathrine-adaptine. Les vésicules à hydrolases contiennent les enzymes néosynthétisées dans le REG, marquées par le M6P fixé aux M6P-R situés dans leur membrane.

Pathologie

► Les anomalies ou l'absence de la *GlcNAc-phosphotransférase* sont responsables de la *maladie à cellules I* (maladie des cellules à inclusions). Cette maladie génétique récessive se traduit par la présence de volumineuses inclusions intracellulaires. Les enzymes lysosomales non phosphorylées des fibroblastes ne sont *pas triées* par le TGN : elles sont transportées vers la membrane plasmique et excrétées. Les *substrats*, non *digérés*, s'accumulent dans les lysosomes des fibroblastes, formant ainsi de *volumineuses inclusions*. Mais les lysosomes d'autres types cellulaires, comme les cellules hépatiques, possèdent des lysosomes normaux : il existerait donc d'autres voies d'adressage des enzymes lysosomales.

VI. Les compartiments cibles des vésicules à hydrolases

Les techniques d'immunofluorescence ont permis d'identifier les *compartiments cibles* (lysosomes, endosomes et membrane plasmique) et de décrire les trois voies empruntées par les vésicules à hydrolases.

A. Voie endosomale

Les *vésicules à hydrolases* (fig. 18.3) fusionnent avec les *endosomes tardifs* (ou selon de nombreux biologistes avec les *corps multivésiculaires*). Les M6P-R sont libérés de leur ligand, retournent, par l'intermédiaire de vésicules, à leur TGN d'origine afin d'être *recyclés* et de réaliser un nouveau tour de transport.

On peut donc considérer que les *vésicules à hydrolases* sont des vésicules navettes entre l'appareil de Golgi et leur compartiment cible. Les endosomes tardifs, qui viennent de perdre leurs récepteurs de M6P, deviennent alors des lysosomes (endolysosomes). Les vésicules à hydrolases fusionnent également avec les phagosomes (vacuoles de phagocytose) et se transforment ainsi en phagolysosome. Les proséquences des prohydrolases sont clivées dans les endolysosomes tardifs par l'activité protéolytique ; les résidus de mannose perdent des groupements phosphates et les hydrolases matures deviennent fonctionnelles.

Hidden page

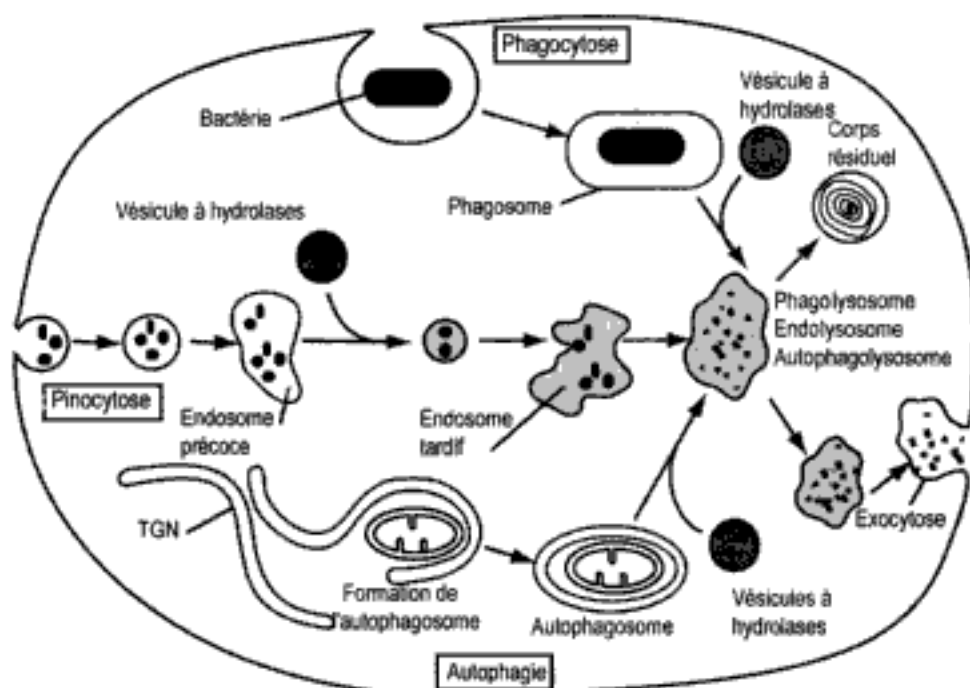


Fig. 18.4

Les lysosomes.

Les lysosomes interviennent dans la voie endosomale (digestion de matériaux ayant pénétré dans la cellule par endocytose, dans la lyse d'organites ou de fragment de cytoplasme de la cellule dans laquelle ils sont situés). Une partie du matériel lysé est récupérée par la cellule et le matériel restant soit subsiste dans la cellule sous la forme de corps résiduels, soit est excrété dans le milieu extracellulaire.

extracellulaires. Ils peuvent former des corps résiduels qui souvent demeurent dans le cytoplasme.

A. Hétérophagie**1. Définition**

L'hétérophagie est la dégradation, par les lysosomes, de produits importés dans la cellule par endocytose ou phagocytose (fig. 18.5).

2. Évolution du phagosome

Les phagosomes sont des vacuoles formées par phagocytose chez les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. Ils ne contiennent pas d'enzymes lysosomiales.

a. Maturation des phagosomes

La maturation des phagosomes (par exemple chez les macrophages) évolue par paliers successifs, au cours desquels la composition protéique de la membrane est modifiée. En effet, les phagosomes nouvellement formés sont impliqués dans des contacts rapides avec des vésicules plus anciennes de la voie de l'endocytose. Cette maturation élimine des protéines de la membrane plasmique et les remplace par la GTPase Rab5 et les *cis*-SNARE qui interviennent dans le ciblage et la fusion des endosomes.

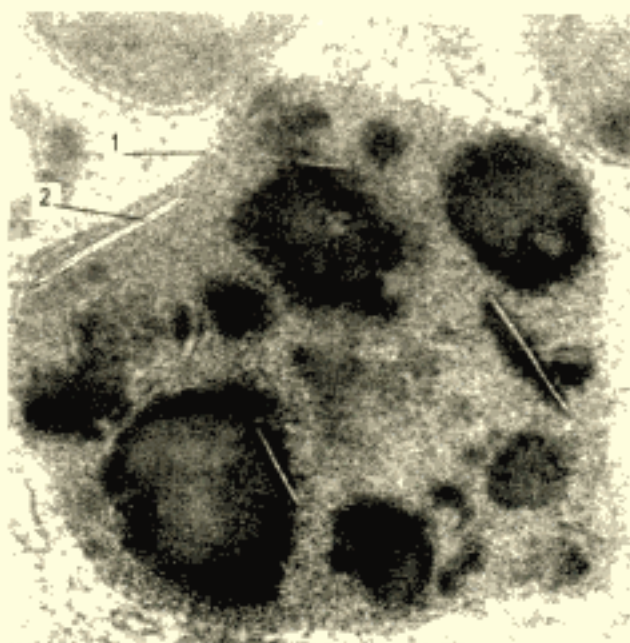


Fig. 18.5

Vacuole d'hétérophagie ($\times 80\,000$).

1. Membrane de la vacuole hétérophagique. 2. Corps étranger.

b. Fusion des phagosomes avec les lysosomes

Les phagosomes subissent deux évolutions possibles :

- ils fusionnent avec les lysosomes, avec les vésicules à hydrolases (fig. 18.6) et se transforment en une vacuole hétérophagique dénommée *phagolysosome*. Les lysosomes déversent, dans le phagolysosome, du lysozyme et des hydrolases acides pouvant dégrader la paroi cellulaire bactérienne et les protéines. La fusion phagosome-lysosome est bloquée par les agents qui perturbent les fonctions des protéines G. Cette fusion est contrôlée par les GTPases hétérotrimériques (des petites protéines G de la famille Rab interviennent aussi) ; les phagosomes deviennent alors des vacuoles hétérophagiques ou phagolysosomes (voir chapitre 15, p. 413) ;
- plus rarement, ils traversent la cellule (diacytose ou transcytose), sans fusionner avec les lysosomes, et déchargent (régurgitation) leur contenu dans le milieu extracellulaire.

c. Les phagolysosomes

► Définition

Les phagolysosomes sont des vacuoles hétérophagiques qui protègent la cellule contre les agressions pathogènes. Les cellules phagocytaires développent dans ce but une activité considérable : un macrophage très actif contient environ un millier de lysosomes.

► Lyse des bactéries

Avant de fusionner avec les lysosomes, les bactéries contenues dans le phagosome sont soumises à l'activité mortelle d'une série d'oxydants (superoxydes, hypochlorite, peroxyde d'hydrogène, radicaux hydroxyle et monoxyde d'azote) produits par la NADPH oxygénase, une enzyme de la membrane du phagosome. La consommation d'oxygène par la cellule augmente brutalement et de manière transitoire (explosion respiratoire).

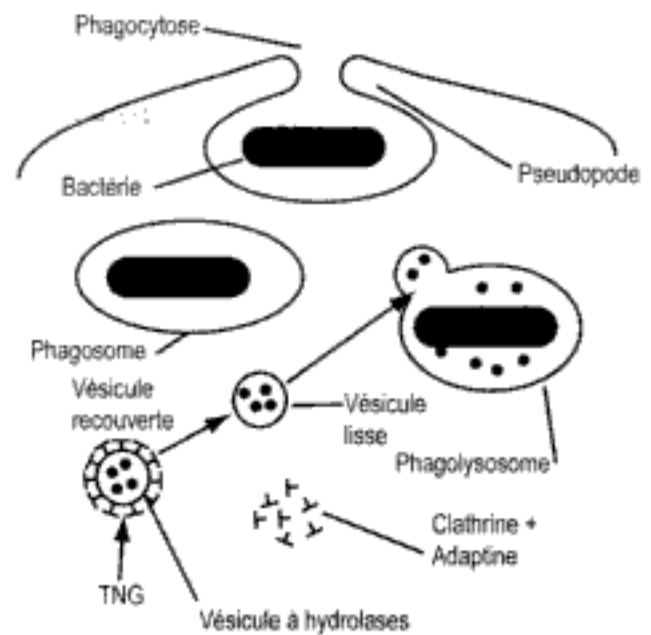


Fig. 18.6
Phagocytose.
Phagolysosomes.

Les macrophages doivent être activés pour produire les oxydants. Cette activation dépend des IFN- γ (interféron γ) et du ligand CD40 élaboré par les lymphocytes *T helper*. Les IFN- γ se fixent sur des récepteurs des IFN- γ situés sur la membrane plasmique des macrophages et le ligand CD40, une protéine costimulatrice, se fixe sur CD40 situé sur les macrophages. La fixation du ligand CD40 favorise la fusion du phagosome avec les endolysosomes qui déversent alors des hydrolases, des protéases et des défensines. Les défensines constituent une famille de protéines enzymatiques de 30 à 35 acides aminés contenues dans les granulations des polynucléaires neutrophiles : elles représentent jusqu'à 15 % des protéines totales des neutrophiles. Elles possèdent une action membranolytique sur les bactéries Gram+ et Gram-, les champignons et les virus. Les protéases et les défensines attaquent les membranes bactériennes et lysent les constituants bactériens.

► Mécanismes d'échappement

Cependant, cette protection ne fonctionne pas avec toutes les bactéries. Ainsi, le bacille de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*) n'est pas détruit car ces bactéries ont la faculté d'inhiber la fusion des endolysosomes ou des vésicules à hydrolases avec les phagosomes. Non seulement elles échappent à la destruction, mais encore elles se multiplient dans la cellule. De même, les phagolysosomes, qui contiennent des bacilles de la tuberculose aviaire (*Mycobacterium avium*), conservent un contenu dont le pH ne peut descendre au-dessous de 6,3, c'est-à-dire un pH insuffisant pour que les enzymes lysosomales soient actives. Après fusion, ces vacuoles n'acquièrent pas de pompes à protons. Enfin, *Listeria monocytogenes* produit une lipase qui détruit la paroi lysosomale et lui permet de passer dans le cytoplasme.

3. Évolution des vacuoles de pinocytose

Les molécules qui pénètrent dans la cellule par pinocytose sont transportées par des vésicules de petite taille qui fusionnent avec les endosomes

précoces (voir chapitre 15, p. 413). Les molécules qui ne sont pas recyclées sont transportées par les corps multivésiculaires dans lesquelles les vésicules à hydrolases déversent leurs enzymes. Enfin, les corps multivésiculaires fusionnent ou deviennent des endosomes tardifs dans lesquels d'autres vésicules à hydrolases déversent leurs enzymes. Les récepteurs des M6P sont libérés de leur ligand, retournent, par l'intermédiaire de vésicules, à leur TGN d'origine afin d'être recyclés et de réaliser un nouveau tour de transport. Les endosomes tardifs, qui viennent de perdre les récepteurs des M6P, deviennent alors des endolysosomes.

B. Autophagie

1. Définition

L'autophagie est un mécanisme peu sélectif de dégradation des constituants cytoplasmiques, qui se déroule dans des autophagosomes (fig. 18.7 et 18.3).

2. Rôle dans le renouvellement des constituants cellulaires

La cellule renouvelle constamment ses structures, en dégradant les molécules qui la constituent et en les remplaçant. Cette dégradation des constituants cellulaires se produit grâce à trois processus parfois simultanés :

- catabolisme par action de traces d'hydrolases qui ne sont pas d'origine lysosomale ;
- catabolisme par des enzymes qui s'échappent des lysosomes et dégradent les constituants cellulaires à renouveler ;
- autophagie.



Fig. 18.7
Autophagie.

1. Membrane externe. 2. Espace intermembranaire.
3. Membrane interne. 4. Rupture de la membrane interne.
5. REG. 6. REL.

3. Formation de l'autophagosome

Une partie du TGN (il était admis que la membrane de l'autophagosome provenait d'un enroulement du TGN autour de la région à digérer) entoure progressivement la région cytoplasmique à détruire (fig. 18.8). L'autophagosome est donc limité par deux membranes. Il renferme divers organites cellulaires (mitochondries, RE, etc.).

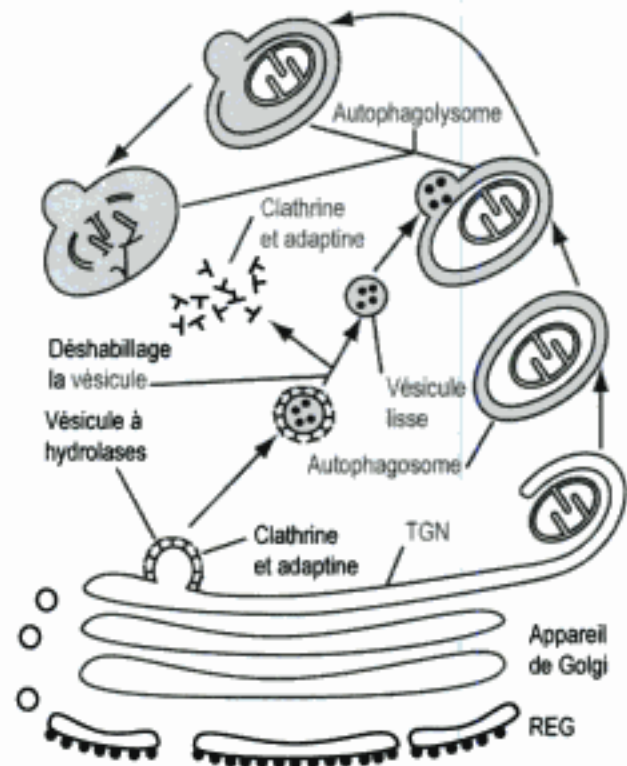


Fig. 18.8
Mécanisme de l'autophagie.

4. Fusion avec les endolysosomes et les vésicules à hydrolases

Les vésicules à hydrolases et les endolysosomes déversent leurs enzymes dans l'espace compris entre les deux membranes. La membrane interne s'épaissit, puis disparaît par lyse enzymatique : cette disparition marque la transformation de l'autophagosome en *autophagolysosome* ; seule persiste la membrane externe. Les organites, alors en contact avec les enzymes, sont détruits.

VIII. Les corps résiduels

A. Définition

Un corps résiduel est une vacuole provenant d'un hétérolysosome ou d'un autophagolysosome, dans laquelle persistent des résidus non digérés par les enzymes lysosomales. Ces résidus sont de nature et de forme très variables, car leur aspect dépend de leur origine. Les corps résiduels contiennent des figures myéliniques, des pigments biliaires, de la ferritine, de la lipofuscine ou une substance étrangère injectée.

B. Figures myéliniques

Les figures myéliniques sont le résultat de la dégradation altérée des phospholipoprotéines. Ces substances constituent habituellement les membranes des divers organites : elles apparaîtront donc comme résidus des autolysosomes.

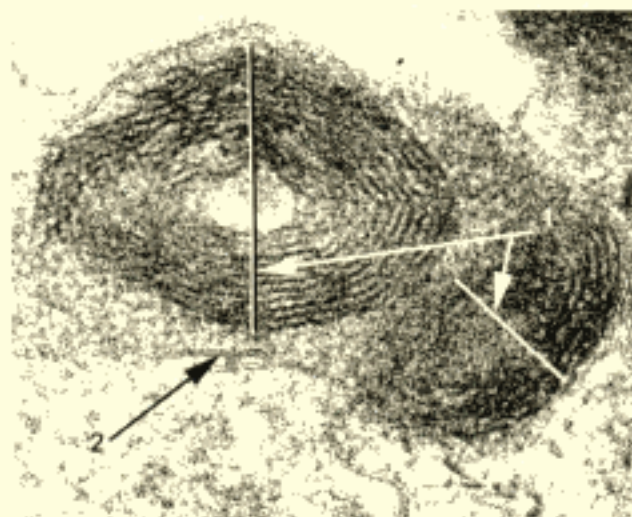


Fig. 18.9

Figure myélinique contenu dans un corps résiduel.

1. Figure myélinique (alternance de lignes sombres et claires).

2. Membrane du corps résiduel.

Leur apparition dépend de la quantité d'enzymes contenues dans les lysosomes. Les protéases existent en très grande quantité ; en revanche, les lipases sont toujours peu abondantes. La fraction protéique des phospholipoprotéines est digérée, tandis que la fraction lipidique ne l'est que partiellement. Or, les molécules lipidiques, qui possèdent un groupement polaire hydrophile, ont toujours tendance à former des couches monomoléculaires. Les figures myéliniques sont donc constituées par des couches monomoléculaires parallèles les unes aux autres, disposées souvent en tourbillons ou en lamelles concentriques.

C. Lipofuscines

Les lipofuscines sont des pigments bruns, appartenant au groupe des chromolipoides. L'analyse biochimique de ce résidu indique la présence de phospholipides et de protéines en petite quantité. Les lipofuscines résultent de l'oxydation non enzymatique des lipides. Dans la plupart des cas, ce type de pigment apparaît dans des cellules altérées ou sénescents, d'où le nom de « pigment d'usure » qui lui est fréquemment attribué.

D. Activité phosphatasique des corps résiduels

Bien que les corps résiduels représentent la fin de l'évolution d'un hétérolysosome ou d'un autolysosome, ils renferment encore une activité phosphatasique acide décelable par les techniques histochimiques. Les autres activités enzymatiques sont faibles, voire nulles.

E. Excrétion ou persistance des corps résiduels

Le matériel « indigeste », qui persiste dans la vacuole, est éliminé à l'extérieur par exocytose (défécation cellulaire). Parfois, la cellule est dans

l'impossibilité d'éliminer ces résidus (constipation cellulaire) : ceux-ci persistent jusqu'à la mort de la cellule.

IX. Fonctions des lysosomes

A. Rôle dans la digestion

Les endolysosomes dégradent toutes les molécules qu'ils contiennent en métabolites élémentaires, acides aminés pour les protéines, acides gras, glycérol, cholestérol... pour les lipides, oses pour les glucides, bases puriques, pyrimidiques, phosphate, oses pour les acides nucléiques. Ces molécules gagnent le cytosol en traversant la membrane lysosomale afin d'être réutilisées au cours de l'anabolisme. Le passage à travers la membrane se déroule par simple diffusion, c'est le cas par exemple du cholestérol, ou grâce à des perméases.

Le nombre de vacuoles autophagiques s'accroît dans les cellules privées de nourriture. L'autophagie maintient le fonctionnement de la cellule en lui fournissant l'énergie nécessaire aux dépens de ses propres organites.

B. Rôle dans la digestion des protéines cytosoliques

Le jeûne déclenche l'autophagie, mais un *jeûne prolongé* provoque une diminution très importante de l'autophagie qui est remplacée progressivement par un mécanisme de *dégradation sélectif des protéines*. La protéine chaperonne Hsp70 reconnaît la séquence signal KFPRQ (lysine-phénylalanine-proline-arginine-glutamine). Les protéines porteuses du signal sont acheminées vers les lysosomes où Lamp-2, une glycoprotéine membranaire lysosomale, joue le rôle d'un récepteur. *Ly-hsc73* (*Lysosome-heat shock cognate* ; protéine lysosomale apparentée aux protéines de choc thermique), une protéine chaperonne de la matrice du lysosome, intervient dans la translocation des protéines cytosoliques dans la matrice des lysosomes où elles sont lysées. Ces protéines sont hydrolysées pour fournir des acides aminés et de l'énergie, permettant au métabolisme de continuer.

C. Rôle dans la défense de l'organisme

Voir chapitre 15, p. 413.

D. Renouvellement des organites

L'autophagie est un mécanisme détruisant les organites et les fragments cytoplasmiques hors d'usage, sans perte de leurs constituants chimiques puisqu'ils sont réutilisés par la cellule.

L'autophagie intervient dans le renouvellement des composants cellulaires. Ainsi, l'étude du renouvellement des *mitochondries hépatiques* indique que, pour 1 g de parenchyme hépatique, un milliard de mitochondries sont détruites par heure. Les mitochondries sont renouvelées 15 fois pendant la demi-vie (150 jours) d'une cellule hépatique. Ce fait implique que, dans chaque cellule, une mitochondrie est détruite toutes les 15 min.

En revanche, le renouvellement du RE ne dépend pas de l'activité autophagique. Le nombre des autolysosomes n'augmente pas lors de la régression du RE, dont l'accroissement a été induit par des agents toxiques comme le phénobarbital.

E. Destruction des zones cellulaires lésées par des toxiques

De nombreux agents toxiques provoquent des altérations cellulaires n'entraînant pas la mort de la cellule. Les lésions cellulaires sont du type focal, c'est-à-dire localisées à des parties plus ou moins volumineuses du cytoplasme.

Les agents responsables de ces lésions sont très variés et nombreux. Citons parmi ceux-ci les inhibiteurs métaboliques, l'intoxication par la phalloïdine, l'obstruction biliaire, les infections virales, les radiations X, UV, gamma, l'hypoxie ou l'anoxie, etc.

Les zones lésées par ces agents s'entourent d'une membrane et forment une vacuole autophagique. L'autophagie est alors un mécanisme de défense, tendant à limiter l'extension d'un processus dégénératif.

F. Rôle dans la régulation de la sécrétion (crinophagie)

La crinophagie est une forme particulière d'autophagie qui se traduit par la lyse des produits de sécrétion dans les *crinolysosomes* formés par la *fusion directe* des grains de sécrétion avec les lysosomes. La crinophagie s'observe dans les cellules sécrétrices, endocrines ou exocrines. Lorsque les besoins de l'organisme sont couverts, les grains de sécrétion ne sont plus excrétés, mais s'accumulent dans la cellule. Ils sont détruits par les lysosomes, dans lesquels le matériel en excès est résorbé. Par exemple, à la fin de la période d'allaitement, les grains de sécrétion des cellules à prolactine (hormone responsable de la sécrétion lactée) sont détruits par crinophagie (fig. 18.10).

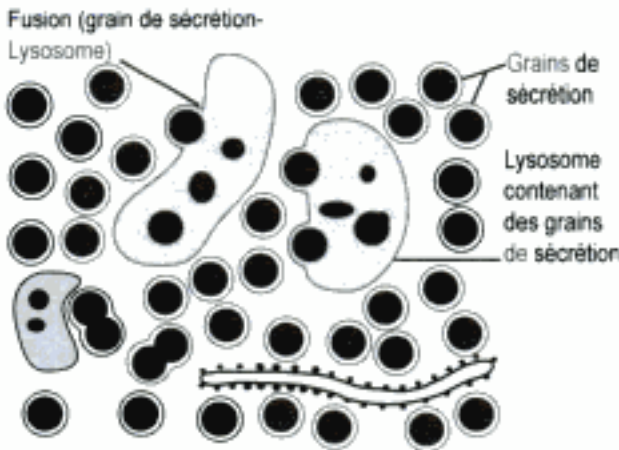


Fig. 18.10
Crinophagie.

G. Digestion de matériaux extracellulaires

Les ostéoclastes sont des cellules multinucléées, qui jouent un rôle essentiel dans la résorption du tissu osseux. Ils possèdent, sur une de leurs faces, de très nombreuses microvillosités (fig. 18.11).

Ils s'appliquent, par cette face, aux travées osseuses, auxquelles ils adhèrent grâce à une intégrine. Les villosités délimitent des espaces clos dénommés *chambres de résorption*, situés entre le tissu osseux et la membrane plasmique de l'ostéoclaste.

Hidden page

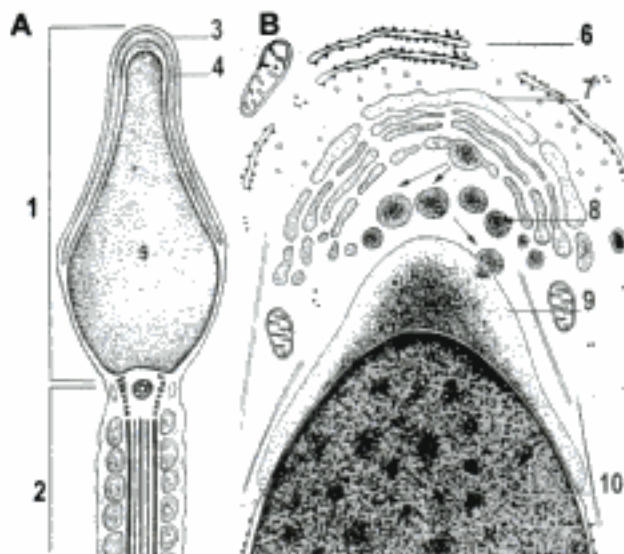


Fig. 18.12

Acrosome.

A. Partie antérieure du spermatozoïde. 1. Tête. 2. Pièce intermédiaire. 3. Membrane plasmique. 4. Acrosome. 5. Noyau.

B. Partie antérieure de la tête du spermatozoïde. 6. Réticulum endoplasmique. 7. Appareil de Golgi. 8. Granule pré-acrosomique.

9. Acrosome. 10. Noyau.

Redessiné d'après C.G. Thérêt, P. Lalégrie et J. Alliet.

X. Les maladies lysosomales

A. Lésions non génétiques de la membrane lysosomale

1. Destruction mécanique ou toxique

La membrane est détruite par des facteurs extrêmement divers (choc traumatique, anoxie, oxygène hyperbare, substances polyanioniques, endotoxines, particules de silice, de béryl, d'étain ou de zinc).

Les maladies suivantes, choisies à titre d'exemples, illustrent ce type d'atteinte du lysosome.

2. Destruction par un agent pathogène

a. Pneumoconioses

Ce sont des affections pulmonaires, provoquées par inhalation de poussière de charbon, de silice, de béryl, d'étain, de zinc. Elles se caractérisent par des lésions pulmonaires entraînant une dyspnée. Le sujet est fragilisé. Il peut être plus facilement atteint, par exemple, de tuberculose pulmonaire. Les réactions inflammatoires tissulaires sont très importantes, entraînant des lésions des bronches et une réaction scléreuse du parenchyme pulmonaire.

Le mécanisme cellulaire est le suivant : les macrophages alvéolaires phagocytent ces particules. Il se forme des vacuoles de phagocytose, dans lesquelles les lysosomes viennent déverser leur produit enzymatique. Les produits contenus dans les phagolysosomes (silice, amiante, béryl) provoquent la rupture de la membrane. Les enzymes libérées détruisent les macrophages qui libèrent leurs enzymes au contact des alvéoles pulmonaires. Les enzymes libérées provoquent à la longue une sclérose pulmonaire.

b. Streptococcies

Les streptocoques sont responsables de nombreuses maladies infectieuses. Ils possèdent la particularité de lyser la membrane des lysosomes,

ce qui entraîne la mort de la cellule par libération des enzymes. La cellule morte libère à son tour, dans l'organisme, les agents pathogènes.

B. Lésions génétiques de la membrane lysosomale

Certains gènes sont responsables de la synthèse des membranes lysosomales. Leur mutation provoque la maladie de Chadiak-Streinbrink-Higashi. Le contenu enzymatique des lysosomes est normal ; en revanche, leur membrane a une aptitude singulière à fusionner avec celle des autres lysosomes, ce qui provoque la formation de lysosomes géants à contour irrégulier (2 à 5 μm de diamètre). La perméabilité de la membrane lysosomale est anormalement augmentée.

Cette maladie se traduit, sur le plan clinique, par une baisse de la résistance aux infections, une splénomégalie, une hépatomégalie, une hypertrophie des ganglions lymphatiques, une photophobie, un albinisme.

C. Maladies de surcharge

L'absence d'une ou de plusieurs enzymes provoque des maladies de surcharge. Cette surcharge peut être d'origine génétique, par l'absence d'une ou de plusieurs enzymes lysosomales, ou acquise.

1. Thésaurosismoses d'origine génétique

De nombreuses thésaurosismoses sont d'origine génétique. Dans ces affections, la membrane lysosomale est strictement normale ; en revanche, un gène responsable de la synthèse des enzymes hydrolasiques est absent ou altéré.

a. Maladie de Pompe

L' α -glucosidase acide est une hydrolase responsable de la dégradation du glycogène : en son absence, le glycogène s'accumule dans les lysosomes qui deviennent volumineux.

Cette affection porte le nom de glycogénose II cardiomyosculaire ou maladie de Pompe. Elle se traduit cliniquement, dès la naissance, par une dyspnée avec polypnée, une toux associée à des troubles cardiaques (présence d'un souffle systolique). La mort survient à la fin de la première année. Anatomiquement, on observe une cardiomyosculaire, parfois une hépatomégalie, une hypertrophie musculaire avec hypotonie, une macroglossie.

b. Autres exemples

Ces maladies sont nombreuses. Dans les maladies de Niemann-Pick, Gaucher, Tay-Sachs, Fabry, Wolman, Hurler, comme dans l'exemple précédent, les substances qui pénètrent dans les lysosomes et dont la digestion ultérieure exigerait la présence de l'enzyme déficiente s'accumulent sur place. Le nombre des lysosomes augmente : ils occupent alors une partie considérable de la cellule. Les désordres qui en découlent sont d'autant plus graves que ces processus intéressent des cellules spécialisées. Ainsi, l'accumulation de substances dans le système nerveux central provoque des atteintes motrices et intellectuelles profondes et une issue souvent fatale.

2. Thésaurismoses acquises

Les thésaurismoses acquises proviennent d'une surcharge des lysosomes. Des surcharges lysosomales apparaissent lorsque des lysosomes normaux n'ont pas le temps d'hydrolyser les substances qui pénètrent dans la cellule. Dans les néphrites, de grosses gouttelettes hyalines apparaissent dans le cytoplasme. Ces gouttelettes sont des lysosomes chargés de protéines qui n'ont pas le temps d'être hydrolysées, car la réabsorption par le tube contourné proximal est trop rapide. La cellule rénale dégénère.

POINTS CLÉS

- Les lysosomes sont des organites d'aspect très hétérogène qui renferment des hydrolases capables de dégrader toutes les molécules que la cellule contient habituellement. Ces hydrolases leur sont livrées par des vésicules à clathrine formées par vésiculation du TGN.
- Lamp-1 et 2 sont les marqueurs de la membrane lysosomale.
- Le pH acide 4,6 en moyenne est maintenu par des pompes vacuolaires à protons (pompe V).
- Les protéines ABC importent dans les lysosomes des protéines cytosoliques : les acides aminés résultant de l'hydrolyse sont exportés dans le cytosol.
- Les molécules produites par les hydrolases sont exportées dans le cytoplasme par des perméases situées dans la membrane.
- La membrane des lysosomes contient un lipide rare, l'acide lysobisphosphatidique, qui stabilise les membranes lysosomales.
- Les compartiments cibles des vésicules à hydrolases sont les lysosomes, les endosomes et la membrane plasmique.
- Les lysosomes sont responsables de l'hétérophagie (dégradation de produits importés dans la cellule), de l'autophagie, de la crinophagie, de la digestion de matériaux extracellulaires (ostéolyse par les ostéoclastes).
- Les corps résiduels sont des lysosomes dont le contenu a été partiellement lysé. Les figures myéliniques, la lipofuscine sont les résidus les plus fréquents.
- Les fonctions des lysosomes sont multiples : concentration de substances, nutrition, défense, détoxification, participation au renouvellement de certains organites en intervenant dans leur dégradation, régulation de la sécrétion endocrine et exocrine (crinophagie), participation à la synthèse d'hormones (hormones thyroïdiennes T3 et T4), intervention dans la formation de l'acrosome des spermatozoïdes et dans la prévention de la polyspermie (lysosome du cortex ovocytaire).

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Les lysosomes

- ☐ A. Sont chargés de détruire uniquement des molécules externes à la cellule.
- ☐ B. Sont automatiquement sphériques.
- ☐ C. Ceux des macrophages de par leur nombre sont visibles en microscopie à contraste de phase.
- ☐ D. Ont un pH voisin de 4,6.
- ☐ E. Sont des organites ubiquitaires.

2. Les vésicules à hydrolases

- ☐ A. C'est dans ces vésicules que sont activées les hydrolases.
- ☐ B. Après leur formation elles perdent leur manteau de clathrines et d'adaptines.
- ☐ C. Elles fusionnent avec les endosomes tardifs.
- ☐ D. Elles ne peuvent pas fusionner avec la membrane plasmique.
- ☐ E. Leur adressage dépend des protéines SNARE.

3. La membrane des lysosomes

- ☐ A. Ne contient pas de cholestérol.
- ☐ B. Est riche en protéines Lamp.
- ☐ C. Est riche en protéines transmembranaires.
- ☐ D. Est riche en glycoprotéines la protégeant de l'action des hydrolases.
- ☐ E. Contient un lipide particulier : l'acide lysobisphosphatidique sur sa face cytosolique.

4. Parmi les protéines membranaires des lysosomes on trouve

- ☐ A. De nombreuses perméases.
- ☐ B. Des protéines ABC qui transportent les produits de dégradation vers le cytosol.
- ☐ C. Aucune enzyme hydrolytique.
- ☐ D. Des pompes Na^+/K^+ ATP-dépendantes.
- ☐ E. Des pompes à protons ATP Mg^{2+} -dépendantes.

5. Les enzymes lysosomales de la matrice

- ☐ A. La phosphorylation du mannose se fait grâce à une enzyme membranaire du saccule cis de l'appareil de Golgi.
- ☐ B. L'association avec le récepteur au mannose 6-phosphate se fait dans le saccule trans.
- ☐ C. Les hydrolases ne se détachent de leur récepteur que dans l'endosome tardif.
- ☐ D. Sont activées par clivage protéique et perte du phosphate du mannose.
- ☐ E. Sont activées par clivage protéique et perte du mannose 6-phosphate.

6. Les enzymes lysosomales de la matrice

- ☐ A. Un pH non acide peut les inhiber.
- ☐ B. Sont incapables de casser la liaison C-C.
- ☐ C. Sont capables de digérer de la silice.
- ☐ D. Sont capables de digérer de l'hydroxyapatite.
- ☐ E. Les protéases sortent des vésicules à hydrolases pour rejoindre les protéosomes dans le cytosol.

7. Les molécules suivantes sont dégradées par les lysosomes

- ☐ A. Les nucléotides.
- ☐ B. Les nucléosides.
- ☐ C. Le cholestérol.
- ☐ D. Le diacylglycérol.
- ☐ E. L'ATP.

8. Les molécules suivantes sont des enzymes

- ☐ A. L' α -glucosidase.
- ☐ B. L'arylsulfatase.
- ☐ C. La phosphoinositide 3-kinase.
- ☐ D. La hyaluronidase.
- ☐ E. L'hélicase.

9. Les récepteurs au mannose 6-phosphate

- ☐ A. Ont une activité phosphatase sur le mannose 6-phosphate.
- ☐ B. Peuvent se retrouver sur la membrane plasmique.
- ☐ C. Se déchargent des hydrolases dans l'endosome précoce.
- ☐ D. Se déchargent des hydrolases dans l'endosome tardif.
- ☐ E. Se détruit dans l'endosome précoce.

10. Les corps résiduels

- ☐ A. Contiennent les lipases actives après digestion complète du contenu de l'endosome.
- ☐ B. Les corps myéliniques correspondent à des phospholipides non dégradés.
- ☐ C. Peuvent rester dans le cytoplasme sans perturber le fonctionnement cellulaire.
- ☐ D. Permettent la dégradation des protéines cytosoliques.
- ☐ E. Sont dus à un dysfonctionnement de la cellule.

11. Digestion des bactéries

- ☐ A. Elles sont tuées avant d'être phagocytées par le macrophage.
- ☐ B. Elles sont tuées dans le phagolysosome.
- ☐ C. Les défensines détruisent la paroi bactérienne.
- ☐ D. Les défensines détruisent la membrane bactérienne.
- ☐ E. La NADPH oxydase intervient dans la mort des bactéries.

12. Les corps résiduels

- ☐ A. Contiennent des molécules en cours de dégradation.
- ☐ B. Contiennent encore des phosphatases actives.
- ☐ C. Peuvent rester dans le cytoplasme sans perturber le fonctionnement cellulaire.
- ☐ D. Peuvent contenir des pigments partiellement dégradés.
- ☐ E. Les corps myéliniques correspondent à des phospholipides non dégradés.

13. L'autophagie

- ☐ A. Peut concerner toute région du cytoplasme.
- ☐ B. Est responsable de la disparition du RE lors de la mitose.
- ☐ C. Lors de ce processus les vésicules à hydrolases fusionnent avec la membrane externe de la mitochondrie.
- ☐ D. Fait appel aux membranes du TGN.
- ☐ E. La crinophagie est l'autophagie lors d'un jeûne prolongé.

14. Lysosomes et fécondation

- ☐ A. L'acrosome du spermatozoïde est une forme de lysosome.
- ☐ B. Les enzymes de l'acrosome sont responsables de la dégradation de la membrane de l'ovocyte.
- ☐ C. Les enzymes lysosomales de l'ovocyte ont pour fonction de détruire les autres spermatozoïdes.
- ☐ D. Les enzymes lysosomales de l'ovocyte ont pour fonction de détruire la zone pellucide de l'ovocyte.
- ☐ E. Les enzymes lysosomales de l'ovocyte sont principalement des hyaluronidases et des sialidases.

15. Libération d'enzymes lysosomales à l'extérieur des cellules

- ☐ A. Seuls les gamètes et les ostéoclastes libèrent normalement leurs enzymes à l'extérieur.
- ☐ B. Les ostéoclastes adhèrent directement à la structure osseuse.
- ☐ C. La membrane plasmique des ostéoclastes contient des pompes à protons.
- ☐ D. C'est une enzyme qui solubilise les sels calciques.
- ☐ E. Les produits de dégradation restent dans le milieu extérieur.

16. Les maladies lysosomales peuvent être dues

- ☐ A. À une déchirure mécanique de la membrane.
- ☐ B. À une déchirure chimique de la membrane.
- ☐ C. À une absence d'une enzyme lysosomale.
- ☐ D. La maladie de Pompe est due à l'absence de la pompe à proton.
- ☐ E. À l'absence de phosphorylation des enzymes lysosomales.

QROC

1. En quoi l'aspect morphologique ne peut nous renseigner pour la localisation des lysosomes ?
2. Quels sont les marqueurs les plus utilisés pour visualiser les lysosomes ?
3. Quelle est la fonction de l'acide lysobisphosphatidique ?
4. Sur quel principe réactionnel fonctionnent les hydrolases ?
5. Sous quelle forme les produits de dégradation des acides nucléiques passent-ils la membrane du lysosome ?
6. Donner les différents modes d'action des peptidases.

7. Quelle est la fonction de la N-acétylglucosaminidase ?
8. Quelles sont les molécules intervenant dans la formation des vésicules à hydrolases ?
9. Donner le cheminement principal du récepteur des M6P.
10. Pourquoi les récepteurs membranaires qui interviennent dans le processus de phagocytose ne sont-ils pas détruits ?
11. Quel est le principe de la maturation des phagosomes ?
12. Il existe un seul cas lors des processus d'autophagie où les lysosomes fusionnent directement avec l'organite à détruire, lequel et comment appelle-t-on ce processus ?
13. Dans les hépatocytes, quel est le taux de destruction des mitochondries ?
14. Comment appelle-t-on l'espace entre les ostéoclastes et l'os ?
15. Citer des molécules que l'on trouve dans les corps résiduels.
16. De quoi sont composés les corps myéliniques ?
17. Comment se forme un autophagosome ?
18. Comment distingue-t-on sur un plan morphologique un autophagosome d'un autophagolysosome (avant la destruction des organites) ?
19. Des protéines partiellement détruites par les protéosomes peuvent rejoindre les lysosomes, par quel type de transporteurs ?
20. Quels sont les critères pour qu'une protéine partiellement dégradée rejoigne le lysosome ?

Pour les corrections, se reporter à la page 590

Hidden page

B. Localisation et nombre

Ils existent dans toute cellule eucaryote, à l'exception toutefois des réticulocytes et des hématies. Ils sont abondants dans les cellules hépatiques (un hépatocyte en contient environ un millier soit 1 % du volume cellulaire), les cellules rénales et les neurones. Leur nombre est variable, fonction de l'activité cellulaire ou de l'action de facteurs cellulaires comme l'hormone thyroïdienne dont l'administration augmente leur volume de 50 à 60 % dans les hépatocytes.

C. Structure

1. Forme et taille

Classiquement, les peroxysomes sont des organites ovoïdes (fig. 19.1 et 19.2), limités par une seule membrane enfermant une matrice homogène : leur diamètre oscille entre 0,15 et 1,7 μm .

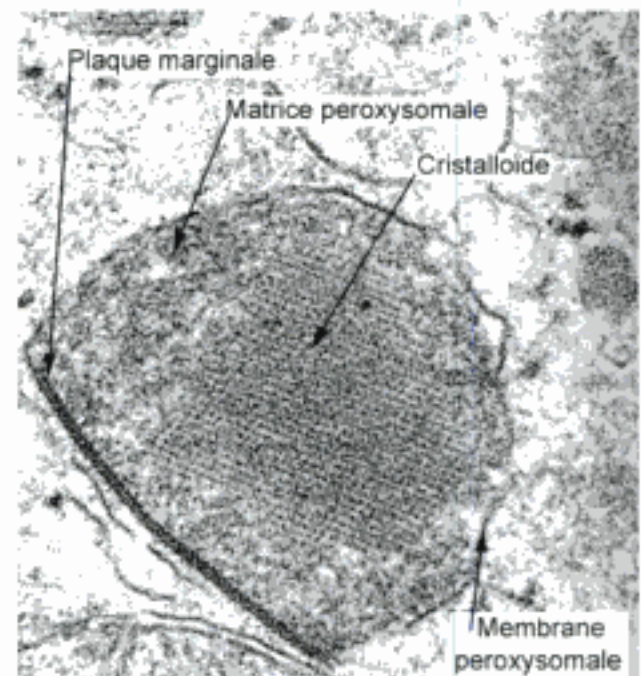


Fig. 19.1

Peroxisome (taupe).

1. Plaque marginale. 2. Matrice peroxysomale. 3. Cristalloïde.
4. Membrane peroxysomale.

Photomicrographie due à la courtoisie de Z. Hruban et M. Recher.

2. Membrane peroxysomale

Elle limite le peroxysome à sa périphérie. Dans les conditions classiques de fixation, elle offre, à l'examen, une structure trilamellaire, d'une épaisseur de 6 à 8 nm, morphologiquement (et *seulement morphologiquement*) semblable à celle du REL (de nombreux cytologistes pensèrent, pour cette raison, que les peroxysomes se différenciaient à partir d'expansions tubulaires souvent sinueuses du REL).

3. Matrice

La matrice est modérément opaque au rayonnement électronique. Chez de très nombreuses espèces (*sauf chez les primates* et en particulier chez l'Homme), elle contient une formation de structure cristalline, le *nucléotide* constitué d'uricase qui lyse l'acide urique, un produit

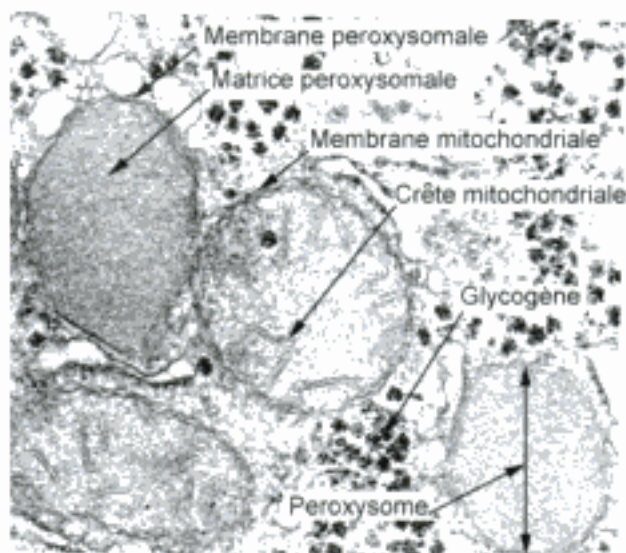


Fig. 19.2

Peroxysome de foie humain.

($\times 50\,000$ photomicrographie en MET)

Comparer les deux peroxysomes avec les mitochondries.

du catabolisme des purines. Chez les primates, l'acide urique est éliminé tel quel au lieu d'être dégradé (fig. 19.2).

4. Plaque marginale

La plaque marginale est une formation très inconstante qui double localement la membrane peroxysomale : elle existe parfois dans les peroxysomes du foie et des reins de nombreux primates et dans d'autres familles animales. Elle est plate, linéaire, épaisse de 8,5 nm (donc plus épaisse que la membrane du peroxysome) : elle est homogène et dense au rayonnement électronique. Un espace étroit, de faible densité au rayonnement électronique, sépare la plaque marginale de la membrane du peroxysome.

5. Disposition en réseau canaliculaire

Les peroxysomes peuvent parfois rester en connexion les uns avec les autres par le biais de fines structures canaliculaires (fig. 19.3) : par exemple, dans les cellules des glandes préputiales de la souris. Des coupes épaisses colorées par une *technique de coloration de la peroxydase* mettent en évidence la disposition en réseau des peroxysomes. De très fins canalicules les associent les uns avec les autres. Ce réseau est totalement indépendant du réticulum endoplasmique. Les canalicules et les peroxysomes ont les mêmes fonctions.

Il n'existe alors pas de critère morphologique décisif permettant d'identifier les peroxysomes. Leur identification, en microscopie électronique, repose sur l'utilisation d'une réaction histochimique révélant leur activité catalasique par action de la diaminobenzidine et du peroxyde d'hydrogène qui les colorent sélectivement en noir.

■ Le plus souvent, chez l'Homme, les peroxysomes ne possèdent qu'une membrane et une matrice, donc aucun caractère particulier qui permet de les identifier d'après leur forme avec une absolue certitude. Ils ne possèdent pas d'uricase (donc absence de nucléoïde) et rarement une plaque marginale.

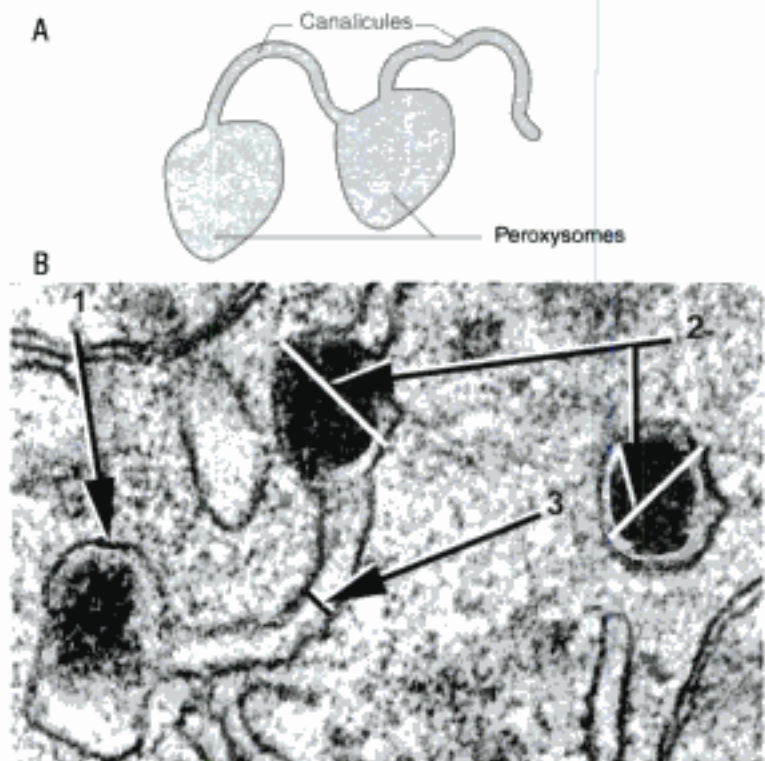


Fig. 19.3

Disposition de peroxysomes en réseau canalaire.

A. Représentation très schématique.

B. Photomicrographie en microscopie électronique ($\times 65\,000$). 1. Membrane d'un peroxysome.

2. Peroxysome. 3. Canalicule associant les peroxysomes.

II. Composition biochimique des peroxysomes

A. Composition biochimique de la membrane

1. Peroxines (ou peroxines)

Les peroxines interviennent non seulement dans la constitution des peroxysomes mais aussi dans la reconnaissance, l'arrimage et la translocation des protéines destinées à la *matrice* : les protéines PEX17, 13 et 14 sont vraisemblablement des protéines d'arrimage tandis que d'autres protéines PEX interviendraient dans la translocation. Les peroxines reconnaissent les séquences d'adressage PTS1 et PTS2 (*Peroxisome Targeting Signal* ; signal d'adressage peroxysomal) des protéines à destination peroxysomale.

2. Protéines ABC

Les protéines ABC interviennent dans l'importation, dans la matrice, des protéines d'origine cytosolique. Ces protéines possèdent 12 hélices α transmembranaires : elles peuvent transporter des produits extrêmement variés comme des peptides, des ions ou des molécules organiques de synthèse. Elles ne sont pas localisées uniquement dans les peroxysomes mais aussi dans les membranes biologiques impliquées dans des transports transmembranaires. Les protéines PEX1 et 6 appartiennent à la famille des protéines ABC. Elles possèdent un ou deux domaines de fixation de l'ATP exposés dans le cytosol : la translocation de protéines dans les peroxysomes est ATP-dépendante.

Hidden page

- la *D-amino-oxydase* qui agit sur les D-amino-acides d'une manière spécifique. Il est difficile d'en comprendre la signification, puisque ces acides aminés n'existent pas chez les vertébrés et très rarement chez les procaryotes.

III. Renouvellement des protéines peroxysomales

A. Origine des protéines peroxysomales

Environ 20 à 30 % des protéines peroxysomales sont renouvelées chaque jour et donc synthétisées pour assurer leur remplacement. Toutes les protéines des peroxysomes sont codées par les gènes nucléaires *PEX* : elles sont traduites par les polyribosomes libres du cytosol.

Toutes les peroxines, membranaires ou matricielles, sont synthétisées par les ribosomes libres cytosoliques : elles sont secondairement importées dans la membrane ou dans la matrice peroxysomale. Elles peuvent être synthétisées sous la forme de précurseur, pénètrent dans la matrice grâce à une machinerie d'importation où elles achèvent leur formation.

Par exemple, le précurseur de la catalase, l'*apocatalase*, est synthétisé dans le cytosol, transporté dans la matrice peroxysomale où quatre molécules d'*apocatalase* s'associent à quatre molécules d'hème.

B. Assemblage des membranes peroxysomales membranaires

Les recherches poursuivies sur une malade atteinte du syndrome de Zellweger ont permis de montrer que l'assemblage de la membrane précède l'importation des protéines solubles et qu'elles ne proviennent pas du réticulum endoplasmique. Les gènes *PEX3*, *PEX16* et *PEX19* interagissent au stade initial de la biogenèse des peroxysomes.

Les membranes des peroxysomes ne se forment pas à partir de celles du réticulum endoplasmique. Certes, on savait déjà que les protéines de la membrane peroxysomale ne sont pas glycosylées et que la composition en phospholipides des membranes du RE et des peroxysomes est différente. Mais les recherches faites sur le syndrome de Zellweger montrent que la protéine *PEX3* n'est pas présente dans le réticulum endoplasmique et que l'inhibition de COP I par la bréfeldine ainsi que celle de COP II, n'empêche pas l'action de *PEX3* sur la peroxygénèse. L'absence de l'une de ces trois protéines provoque une impossibilité à former la membrane peroxysomale. Les protéines transmembranaires des peroxysomes ne contiennent pas de motifs de type *PTS1* ni *PTS2*, elles utilisent des signaux d'adressage distincts encore mal connus.

C. Importation des protéines peroxysomales dans la matrice

De nombreuses peroxines cytosoliques reconnaissent le signal d'adressage des protéines peroxysomales néosynthétisées, les transportent vers les peroxysomes. Elles sont indispensables : leur mutation ou leur absence est la cause d'une maladie peroxysomale.

Vingt-trois peroxines interviennent afin d'assurer une biogenèse correcte des peroxysomes. Elles sont numérotées de 1 à 23. Les *PEX1* et 2, 4 à 10, 12 à 15, 17, 18, 20 à 23 importent les protéines peroxysomales à la matrice. La *PEX3* intervient dans l'importation de la PMP (*Peroxisomal Membrane Protein* ; protéine membranaire des peroxysomes). La *PEX11*

importe la PMP qui interviendrait dans la division des peroxysomes. La PEX19 est un récepteur de la PMP qui joue un rôle dans la biogenèse de la matrice.

1. Signaux d'adressage des protéines peroxysomales

Les protéines peroxysomales sont porteuses d'un des deux signaux d'adressage aux peroxysomes : *PTS1* et *PTS2*. Les gènes *PEX5* codent pour les récepteurs cytosoliques de *PTS1* et *PEX7* pour les récepteurs cytosoliques de *PTS2*.

La plupart des protéines destinées à la matrice peroxysomale contiennent l'un des deux signaux spécifiques *PTS1* ou *PTS2*.

PTS1 est le signal le plus fréquent. Il est caractérisé par la présence d'une séquence SKL (sérine-lysine-leucine) dans la région carboxyterminale. Il intervient dans le transport d'environ 95 % des protéines de la matrice peroxysomale.

PTS2 est seulement porté par trois protéines peroxysomales de la matrice. Il est composé par la séquence suivante : RLX₅H/QL (arginine-leucine-X₅-histidine/glutamine-leucine où X représente un acide aminé quelconque) située à l'extrémité aminoterminal.

2. Transport des protéines vers les peroxysomes

Le mécanisme de transport des protéines vers les peroxysomes est mieux connu que celui de leur passage dans la matrice. Des peroxines *PEX5* et *PEX7* font la navette entre cytosol et la membrane peroxysomale. La protéine *PEX5* reconnaît le signal *PTS1* et la protéine *PEX7* reconnaît le signal *PTS2*. *PEX5* et *PEX7* transportent les protéines à la membrane peroxysomale.

3. Translocation des protéines peroxysomales

PEX5 associé à la protéine à destination peroxysomale (complexe *PEX5* – protéine X) interagit avec le site récepteur de *PEX14*, une peroxyne intramembranaire. Le complexe *PEX5* – protéine X est ensuite transféré à un groupe de protéines membranaires *PEX10*, 12 et 2 qui interviennent dans la translocation de la protéine X en formant un canal. À ce moment, *PEX5* se dissocie de la protéine X et regagne le cytosol, tandis que *PEX10*, 12 et 2 assurent la translocation de la protéine X. Une mutation des gènes codant pour l'une de ces trois protéines *PEX* bloque l'importation de la catalase et son accumulation dans le cytosol.

L'importation des protéines dans les peroxysomes est ATP-dépendante. Dans la matrice, la protéine peroxysomale importée conserve sa séquence signal.

La machinerie d'importation des peroxysomes est assez différente de celle du RE ou des mitochondries dans la mesure où la *translocation* intéresse des *protéines repliées*. Par exemple, avant sa transduction, la catalase est repliée et se lie à un hème. Il a été démontré que la machinerie peroxysomale permettait la transduction de protéines très volumineuses. Le mécanisme d'une telle translocation est actuellement du domaine des hypothèses.

Hidden page

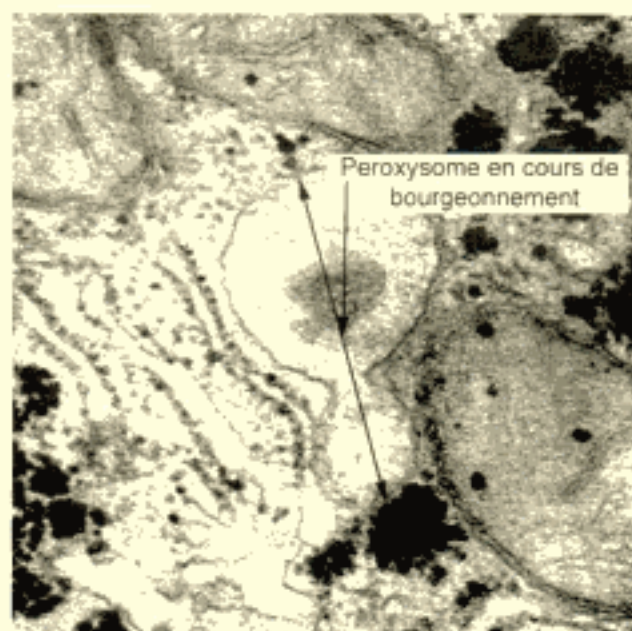


Fig. 19.5

Multiplication des peroxysomes par bourgeonnement.

À droite du peroxysome, une mitochondrie.

À gauche, des citernes du REG.

interviennent dans l'assemblage des peroxysomes, dans le transport des protéines peroxysomales. La mutation des gènes *PEX* provoque des altérations plus ou moins sérieuses des peroxysomes, pouvant aboutir à de graves perturbations du fonctionnement de la machinerie peroxysomale.

1. Proliférateurs des peroxysomes (PP)

Des protéines appelées *proliférateurs des peroxysomes* ou inducteurs de la prolifération peroxysomale activent un récepteur nucléaire soit en se combinant avec lui directement, soit en stimulant la production de ligands pour ce récepteur (la nature de ces ligands est encore mal connue). Les *PP* regroupent des substances aussi diverses que les hormones thyroïdiennes, les hypolipémiants qui abaissent la cholestérolémie, les thiazolidinediones qui possèdent une action antidiabétique. Ces molécules appartiennent donc à un groupe structuellement divers de constituants qui provoquent une multiplication des peroxysomes et une induction des enzymes de la β -oxydation.

2. Récepteurs activés (PPAR)

Les PPAR (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptors* ; récepteurs activés par les proliférateurs des peroxysomes) reconnaissent sur l'ADN de courtes séquences appelées *PPRE* (*Peroxisome Proliferator-Response Elements* ; éléments de réponse aux proliférateurs de peroxysome) qui régulent l'activité des gènes *PEX*. Ces séquences sont localisées sur les régions promotrices en amont des gènes. La fixation des récepteurs activés sur les séquences *PPRE* induit la transcription des gènes *PEX* déclenchant ainsi la synthèse des peroxines.

V. Variabilité des peroxysomes

A. Variation numérique

Le nombre des peroxysomes varie en fonction du type cellulaire. Les peroxysomes sont particulièrement nombreux dans le foie : ils interviennent en effet dans le métabolisme du cholestérol ou dans la glyconéogenèse.

B. Variation du contenu enzymatique

Dans les cellules d'un même organisme, les peroxysomes, en fonction de la nature des cellules dans lesquelles ils se trouvent, contiennent des enzymes très différentes. Ceci explique les possibilités extraordinaires d'adaptation de ces organites.

Le contenu enzymatique des peroxysomes est lié aux fonctions des cellules qui les contiennent : il sera différent dans les cellules qui synthétisent des plasmalogènes (cœur, cerveau) ou des lipides complexes (glande sébacée de la peau).

VI. Fonctions des peroxysomes

A. β -oxydation des acides gras

Le nombre de carbones des acides gras peut être compris entre quelques-uns et 36. Ces acides gras sont présents dans tous les nutriments (l'huile et le beurre ne sont formés que par des acides gras). Les acides gras sont stockés dans les adipocytes et ultérieurement dégradés pour produire de l'énergie. Un transporteur achemine les acides gras de longueur moyenne vers les peroxysomes sous une forme estérifiée (acyl CoA). Mais les acides gras à très longue chaîne sont conduits vers les peroxysomes par un autre transporteur et ne sont estérifiés par CoA que dans la matrice.

Dans la plupart des cellules de mammifères, les peroxysomes sont actuellement reconnus comme le principal organite dans lequel les acides gras sont oxydés. Les acides gras à très longues chaînes, plus de 20 carbones (VLCFA : Very Long Chain Fatty Acid) et les eicosanoïdes (molécules dérivées de l'acide arachidonique importantes dans la transmission des signaux) sont dégradés seulement dans les peroxysomes. Les lipides, contenant entre 10 et 20 atomes de carbone, sont dégradés à la fois dans les mitochondries et dans les peroxysomes. Dans les mitochondries, l'oxydation des acides gras est couplée à la synthèse d'ATP, tandis que l'oxydation peroxysomale des acides gras n'aboutit pas à la formation d'ATP : l'énergie libérée est convertie en chaleur.

B. α -oxydation des acides gras

L'acide phytanique, un acide gras ramifié, dérivé du phytol, ne peut être dégradé par la β -oxydation parce que la fonction méthyle, fixée sur le carbone, bloque la déshydrogénation du groupe hydroxyle par l'hydroxyl-CoA. Le sérum humain en contient 0,4 à 2 mg/L. C'est un acide tétraméthyl-3, 7, 11, 15 hexadécanoïque (hexadécanoïque signifie qu'il possède 16 atomes de carbone et tétraméthyl-3, 7, 11, 15 signifie que les groupes

Hidden page

Hidden page

J. Transformation des acides gras en glucose

C'est un *privège des végétaux* et des formes animales primitives. Cette transformation est impossible chez l'Homme. Les peroxysomes convertissent les graisses en glucides au cours du cycle glyoxylique, une variante du cycle de Krebs. Au cours du cycle glyoxylique, les acides gras forment de l'acétylcoenzyme A, de l'acide succinique. Ce dernier pénètre dans les peroxysomes, en traversant la membrane, pour être converti en glucose. Les peroxysomes, où se déroule un tel cycle, portent le nom de glyoxysomes. *« Nous pouvons fabriquer des graisses à partir des hydrates de carbone, un privilège auquel beaucoup d'entre nous seraient heureux de renoncer – mais nous sommes incapables de renverser le processus, car nos peroxysomes ne sont pas des glyoxysomes. »* (Une visite guidée de la cellule. De Duve, Belin).

VII. Les maladies peroxysomales

Chez l'homme, 17 maladies génétiques peroxysomales ont été isolées (15 se traduisent par une atteinte du système nerveux). Ces maladies génétiques, expression clinique d'une biogenèse anormale des peroxysomes, sont des maladies létales, récessives par mutation d'un ou de plusieurs gènes. Il est tout à fait exceptionnel que les membranes des peroxysomes ne se différencient pas. En revanche, ces maladies traduisent cliniquement un déficit extrêmement variable de l'importation d'une ou de plusieurs protéines dans la matrice peroxysomale. Les maladies peroxysomales sont génétiquement hétérogènes et atteignent moins d'un nouveau-né sur 50 000.

1. Maladie de Refsum

Cette maladie est une génopathie humaine à transmission autosomique due à une mutation du gène *PEX7* qui code pour la peroxine 7. Elle apparaît au moment de l'adolescence. Elle se caractérise cliniquement par une rétinite pigmentaire, une neuropathie périphérique et une ataxie cérébelleuse associée à une surdité, une dysplasie squelettique, une ichthyose, une cataracte et une arythmie cardiaque. Ces anomalies sont provoquées par une *accumulation progressive d'acide phytanique* (un acide gras dérivé du *phytol*).

Dans la maladie de Refsum, les cellules hépatiques ne peuvent plus dégrader les acides gras isopréniques dérivés du phytol (le phytol est un alcool poly-isoprénique présent dans le lait, dans les graisses animales). Le mécanisme de cette accumulation est le suivant : la déficience en *PEX7* inhibe l'importation, dans les peroxysomes, de phytanate α -oxydase. Le phytol ne peut plus être transformé en acide pristanique puis dégradé par β -oxydation. Il s'accumule sous la forme d'acide phytanique.

2. Chondrodysplasie rhizomélisque ponctuée

Cette maladie se traduit par un trouble de la formation ou de la croissance du tissu cartilagineux. Elle est due à une *absence* de la protéine *PEX7*.

3. Adrénoleucodystrophie néonatale

Cette maladie génétique, mortelle en quelques années, est liée au chromosome X : un déficit en acyl-oxydase, dans les peroxysomes, en est la cause. Dans sa forme la plus sévère, NALD (*Neonatal Adrenoleucodystrophy* ; adrénoleucodystrophie néonatale) se traduit par une démyélinisation rapide du système nerveux.

4. Syndrome cérébro-hépato-rénal de Zellweger

Ce syndrome dépend de la mutation de nombreux gènes codant pour les peroxysomes. Ce syndrome est dominé par une dysmorphie craniofaciale, une cataracte bilatérale, une rétinopathie, une atteinte hépatique, des petits kystes rénaux et une sévère dysplasie cérébrale avec hypomyélinisation. Les patients ont de profondes anomalies du système nerveux à la naissance et meurent au cours de la première année.

POINTS CLÉS

- Dans l'espèce humaine, les peroxysomes contiennent une matrice homogène. Ils ne possèdent pas d'uricase (absence de nucléoïde) et rarement une plaque marginale. La mise en évidence d'une activité peroxydasique par la diaminobenzidine permet seule, bien souvent, de les identifier formellement. Les peroxysomes peuvent constituer un réseau canaliculaire, indépendant du réticulum endoplasmique.
- Les protéines des peroxysomes sont désignées par le terme « peroxines » : elles interviennent non seulement dans la constitution des peroxysomes mais aussi dans la reconnaissance, l'arrimage et la translocation des protéines destinées à la matrice.
- Les enzymes communes des peroxysomes sont la peroxydase-catalase, l'uricase qui existe chez tous les mammifères sauf les primates, et l'hydroxy-oxydase.
- Vingt à 30 % des protéines lysosomales sont renouvelées chaque jour : elles sont codées par les gènes et toutes traduites dans le cytoplasme.
- Les peroxysomes se multiplient par division ou par bourgeonnement de la membrane peroxysomale.
- L'activité des gènes *PEX* dépend de protéines appelées proliférateurs de peroxysomes qui regroupent des substances aussi diverses que les hormones thyroïdiennes, les hypolipémiants, les thiazolidinediones. Ces molécules appartiennent à un groupe structurellement divers de constituants qui provoquent une multiplication des peroxysomes et une induction des enzymes de la β -oxydation.
- Les peroxysomes interviennent dans la β -oxydation et l' α -oxydation des acides gras, le début de la synthèse des plasmalogènes, le métabolisme des purines, la biosynthèse du cholestérol et des sels biliaires, le catabolisme des prostaglandines, le métabolisme de la lysine, de l'alanine, de la tri-iodothyronine, la détoxification de l'éthanol et du méthanol.

E N T R A Î N E M E N T

QCM

1. Les peroxysomes

- ☐ A. N'ont pour origine que le REL.
- ☐ B. Possèdent une double membrane.
- ☐ C. Peuvent avoir des aspects différents.
- ☐ D. Peuvent avoir une matrice avec un aspect cristallisé.
- ☐ E. Sont en contact étroit par des petits canaux.

2. Les peroxysomes

- ☐ A. Leur membrane est entièrement doublée d'une plaque marginale.
- ☐ B. Ils contiennent des acides nucléiques sous forme de nucléoïde.
- ☐ C. Ils ne sont discernables que par la mise en évidence d'enzymes.
- ☐ D. Leur nombre est fonction de l'activité de la cellule.
- ☐ E. La moitié de leurs constituants est renouvelée par jour.

3. Les fonctions des peroxysomes

- ☐ A. Détruisent les molécules toxiques.
- ☐ B. Constituent une forme de stockage de l'acide urique.
- ☐ C. Ne font que des réactions de dégradation.
- ☐ D. Sont une source de production de chaleur.
- ☐ E. Sont le lieu de dégradation des bases puriques.

4. Les membranes des peroxysomes contiennent

- ☐ A. Une protéine de type ABC qui transporte les molécules vers le cytosol.
- ☐ B. Du cytochrome P450.
- ☐ C. Les glycoprotéines membranaires forment la plaque marginale.
- ☐ D. Deux ATPases différentes.
- ☐ E. Une acyl CoA synthétase.

5. Les peroxines

- ☐ A. Sont des protéines membranaires.
- ☐ B. Interviennent dans la translocation de protéines vers le peroxysome.
- ☐ C. Sont des cofacteurs de la peroxydase catalase.
- ☐ D. Doivent être phosphorylées pour être actives.
- ☐ E. Interviennent dans la migration des peroxysomes.

6. Ces réactions ont lieu dans le peroxysome

- ☐ A. $RH_2 + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + R$.
- ☐ B. $2H_2O_2 + O_2 \rightarrow 2 H_2O$.
- ☐ C. $RCHOHCOOH + H_2O_2 \rightarrow RCOCOOH + 2H_2O$.
- ☐ D. Éthanol \rightarrow aldehyde formique.
- ☐ E. Acétyl CoA \rightarrow cholestérol.

7. Les enzymes du peroxysome

- ☐ A. Sont codées par des gènes nucléaires.
- ☐ B. Sont transcrits pour moitié par des ribosomes associés au REG.
- ☐ C. Possèdent une séquence signal spécifique.
- ☐ D. Leur translocation se fait via des protéines canal.
- ☐ E. Leur translocation nécessite qu'elles soient sous une forme linéaire.

8. Les enzymes du peroxysome

- ☐ A. Ont besoin de protéines navettes pour être acheminées vers le peroxysome.
- ☐ B. Certaines ont besoin d'un processus de maturation pour être actives.
- ☐ C. Sont différentes selon les types cellulaires.
- ☐ D. Certaines ont besoin de coenzymes de type hème pour être actives.
- ☐ E. Ont besoin d'un pH acide pour fonctionner.

9. Les peroxysomes et les lipides

- ☐ A. Sont les seuls organites capables de détruire les acides gras de plus de 20 carbones.
- ☐ B. Sont les seuls organites capables de détruire les acides gras de moins de 20 carbones.
- ☐ C. L' α -oxydation est la dernière étape de la dégradation des acides gras.
- ☐ D. Les acides gras ramifiés ne sont pas dégradés.
- ☐ E. Le cholestérol y est dégradé.

10. Les autres fonctions des peroxysomes

- ☐ A. Dans la thyroïde, ils participent à la formation de l'hormone T3.
- ☐ B. Ils participent au métabolisme de la lysine.
- ☐ C. Ils participent au métabolisme de l'asparagine.
- ☐ D. Seule la β -oxydation est couplée à une production d'ATP.
- ☐ E. Ils participent au métabolisme des prostaglandines.

Hidden page

Le centre cellulaire et les dérivés centriolaires

I. Le centrosome ou MTOC

II. Les cils vibratiles

Il y a plus de cent ans, Heidenhaim observe pour la première fois, dans une cellule sanguine de salamandre, une structure, le centre cellulaire, un organe mystérieux qui définit le centre géographique de la cellule. Il est composé de deux « granules », les centrioles. La morphologie de cet organe varie : cela se traduit par la concentration, autour des centrioles, de zones particulières condensées. Il se forme ainsi une structure à laquelle van Beneden donne le nom de centrosome. Très rapidement, les biologistes, constatant la participation de cette structure à la division cellulaire, supposent que le centre cellulaire joue le rôle d'un centre dynamique. Une paire de centrioles, cylindres spécialisés dont la paroi est constituée par des microtubules, occupe le cœur de cet organe. Les biologistes notent sa relation avec les cils et flagelles : en effet, les corpuscules basaux, organites situés à la base des cils ou des flagelles, possèdent la même structure que le centriole. Les centrioles sont responsables du recrutement de protéines dont l'ensemble constitue le matériel péricentriolaire (PCM : *Pericentriolar Material*). Le PCM contient, entre autres, la tubuline γ qui nuclée la plupart des microtubules de la cellule, pendant l'interphase et pendant la mitose. Chez les plantes et les champignons, les centrioles et le centrosome sont remplacés par des plaques polaires (*spindle pole body*) : cependant, tous ces centres qui organisent les microtubules ont des fonctions semblables et contiennent des protéines homologues, montrant ainsi qu'ils se sont développés à partir d'un seul ancêtre.

I. Le centrosome ou MTOC

A. Définition

Le centrosome, principal centre de *structuration des microtubules*, est un organe non limité par une membrane, situé au voisinage du noyau et de l'appareil de Golgi (fig. 20.1), généralement constitué par deux centrioles entourés par le matériel péricentriolaire où se termine l'extrémité négative des microtubules. Ces deux centrioles constituent le diplosome (fig. 20.1 et 20.2).

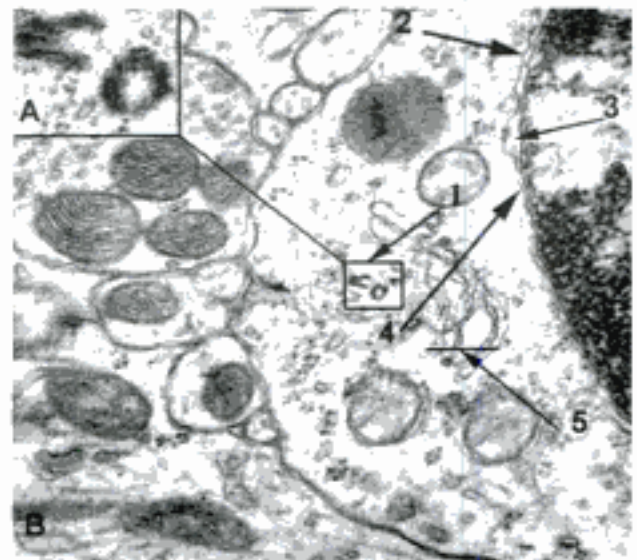


Fig. 20.1

Localisation du centrosome.

A. Centrosome.

B. 1. Diplosome 2. Membrane externe de l'enveloppe nucléaire.

3. Espace périnucléaire. 4. Membrane interne de l'enveloppe nucléaire. 5. Appareil de Golgi.

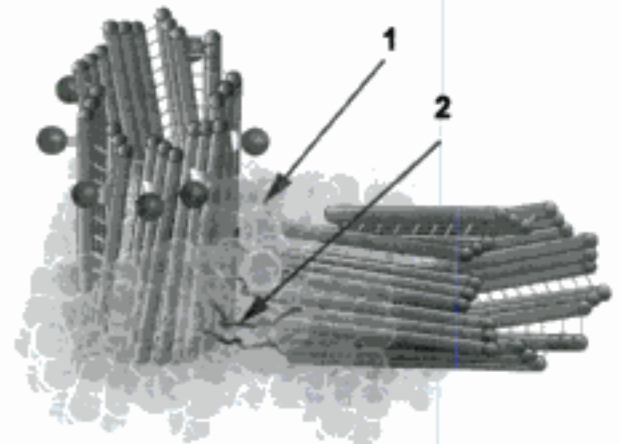


Fig. 20.2

Diplosome : interconnexions des centrioles.

1. Matériel péri-centriolaire.

2. Fibres d'interconnexions centriolaires.

B. Le centriole

1. Structure

Le centriole est un cylindre de 0,15 à 0,25 μm de largeur sur 0,3 à 0,7 μm de longueur. Une des extrémités du centriole est proche du centre de la cellule, c'est la partie proximale, l'autre est tournée vers la périphérie de la cellule, c'est la partie distale.

Il comprend :

- une partie périphérique épaisse, ou *paroi* ;
- un système en roue de charrette situé dans la partie proximale ;
- des structures accessoires, neuf courts appendices distaux qui peuvent connecter le centriole à la membrane plasmique ;
- des satellites ;
- des fibres d'interconnexions des centrioles.

a. Paroi centriolaire

La paroi centriolaire est épaisse de 0,04 à 0,05 μm , dense au rayonnement électronique, contenant neuf groupes de trois microtubules ou triplets (fig. 20.3) entourant une partie centrale généralement claire pouvant parfois contenir un ou deux granules. L'axe virtuel passant par le centre de chacun des tubules fait, avec le rayon du cercle qui décrit la base du cylindre, un angle de 40 à 50°.

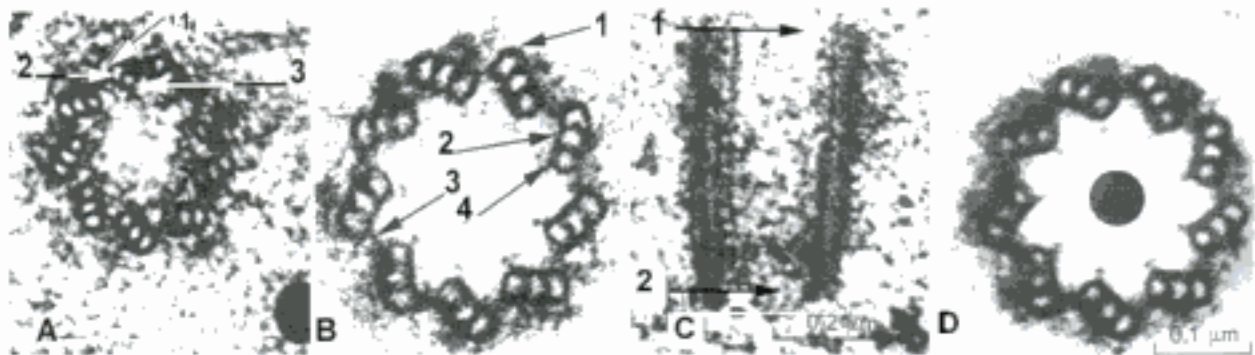


Fig. 20.3

Centriole.

A. Coupe transversale de l'extrémité distale. 1. Microtubule C. 2. Microtubule B. 3. Microtubule A.

B. Coupe transversale de la partie médiane du centriole. 1. Microtubule C. 2. Microtubule B. 3. Lien dense de nexine. 4. Microtubule A.

C. Coupe longitudinale. 1. Extrémité distale. 2. Extrémité proximale.

D. Coupe transversale de l'extrémité proximale avec le système en roue de charrette.

Les lettres A, B ou C désignent chacun des trois MT. Le MT A, le plus interne (c'est-à-dire le plus proche de l'axe du centriole), possède une *paroi commune* avec le MT B (formée par trois à quatre protofilaments d'un diamètre de 5 nm), ainsi que le MT B et le MT C, le plus externe. Le MT A est *circulaire* en coupe transversale tandis que les microtubules B et C sont *semi-lunaires*. Les triplets sont réunis par des liens denses de *nexine* tendus entre les MT A et C.

Leur diamètre atteint 20 à 26 nm.

Une protéine, la *tektine*, apparentée aux filaments intermédiaires, située dans les sillons définis par les MT, stabilise les centrioles.

Deux isoformes de la centrine sont contenues dans les centrioles : ces protéines, semblables à la calmoduline, lient le Ca^{++} . Les centrines interviennent dans la formation du centriole et du corpuscule du fuseau mitotique

b. Système en roue de charrette

Le système en roue de charrette (fig. 20.3D), situé à l'extrémité proximale, est constitué par des rayons denses convergeant vers le centre du centriole. Ils s'insèrent en dehors par des pieds adhérant à la face interne des microtubules A : les rayons et les pieds sont tous disposés dans un plan perpendiculaire à l'axe du centriole et dessinent une sorte de dispositif en roue de charrette. Au-dessus, les rayons sont répartis de telle sorte que la réunion, sur une ligne virtuelle, de leurs points d'insertion sur le cylindre central décrirait une spirale. Lorsque le centriole a atteint, par polymérisation des MT, une longueur de 300 nm, la disposition en roue de charrette est détruite. Elle ne persiste que dans les centrioles qui se transforment en corpuscules basaux.

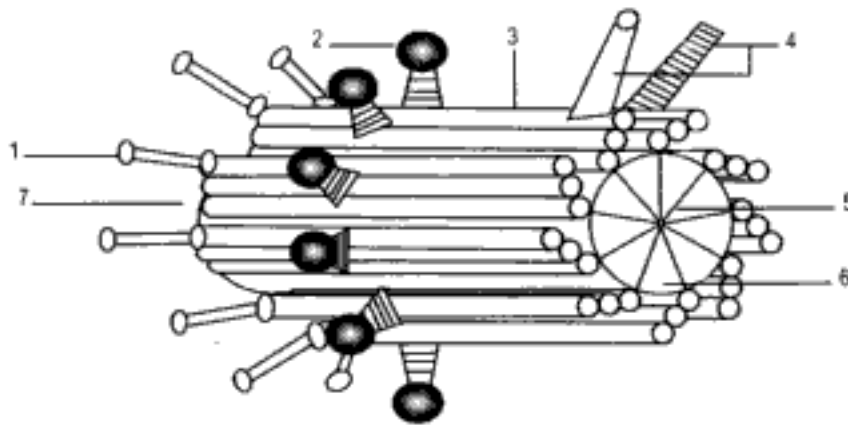


Fig. 20.4

Centriole.

1. Appendice distal (p210, cénexine, p52). 2. Satellite (PCM-1, kendrène). 3. Triplets (tubuline, sp77, sp33, Rib43, tektine). 4. Fibres (centrine, Bap95, Bap90). 5. Roue de charrette. 6. Lumière proximale (tubuline g, Nek-2, C-Nap1). 7. Extrémité distale (centrine, protéine Vif1p, katanine, Fa1p).

(Les MT B et C sont représentés schématiquement sous la forme de cylindre complet)

2. Appendices distaux (fig. 20.4)

Ils jouent un rôle d'ancrage à la membrane plasmique lorsque le centriole se transforme en corpuscule basal.

Il permet l'accrochage du centriole à la membrane plasmique et les appendices distaux deviennent les fibres de transition. Les études sur les algues ont permis d'identifier une protéine distale de l'appendice, la protéine p210 : cette protéine possède des homologies avec la protéine AP180 (adaptine) qui intervient dans l'assemblage du manteau de clathrine et qui joue un rôle dans l'attachement aux membranes. La cénexine, un autre composant des appendices distaux, est localisée dans la même région que les appendices distaux : elle n'existe que chez le centriole père (au cours de la duplication centriolaire, le centriole préexistant est appelé centriole père tandis que le centriole en cours de formation est appelé centriole fils).

a. Satellites centriolaires

Des structures satellites (satellites centriolaires) de forme sphérique sont localisées dans la région péricentriolaire (fig. 20.4). Elles sont attachées aux centrioles par des formations striées. Ces satellites interviennent dans la nucléation des microtubules pendant l'interphase et uniquement pendant l'interphase. Ils n'existent d'ailleurs que pendant cette phase du cycle. Ils fixent les microtubules par leur extrémité négative. Ces satellites contiennent une protéine, la protéine PCM-1 qui attache les microtubules cytoplasmiques aux satellites. Cette protéine PCM-1 peut interagir avec les microtubules par l'intermédiaire de la dynéine cytoplasmique. PCM-1 est localisée dans le centriole pendant la phase G1, mais elle disparaît au cours de la phase G2 et de la phase M, c'est-à-dire au moment où les satellites n'interviennent plus comme sites d'organisation des microtubules. PCM-1 peut former des complexes avec la kendrène, une protéine superenroulée, homologue de la protéine Spc110 de l'aster (chez les levures). Spc110 est impliquée dans le recrutement de matériel servant à

Hidden page

Hidden page

pas directement avec les diplosomes, mais avec la *matrice fibreuse* qui se constitue autour d'eux. Les protéines centrosomales sont séquestrées dans le noyau pendant l'interphase : par exemple NUMA. La libération de ces protéines dans le cytoplasme déclenche la formation des *asters* qui sont des dispositifs rayonnants formés par des microtubules (microtubules astériens) disposés autour du centre cellulaire. Les asters se différencient dès le début de la mitose des cellules animales où il existe en deux exemplaires dans toutes les cellules animales en division.

Une expérience intéressante, qui confirme la localisation nucléaire des protéines centrosomales, a été réalisée chez un ver plat (*Cerebratulus*). Des œufs énucléés sont fragmentés par microchirurgie. Ces fragments peuvent induire l'assemblage d'asters contenant des centrioles, à condition que l'enveloppe nucléaire ait été rompue au cours des micromanipulations. Cette rupture permet aux protéines centrosomales de passer dans le cytoplasme.

► Sixième étape : séparation des diplosomes

Les centrioles ^{PANCIEN} de chaque diplosome sont accolés à leur extrémité proximale par la protéine C-Nap-1 (*Nucleosome Assembly Protein* ; protéine d'assemblage du nucléosome). La kinase Nek2 phosphoryle la protéine C-Nap-1, ce qui provoque la séparation des deux paires de centrioles (fig. 20.6).

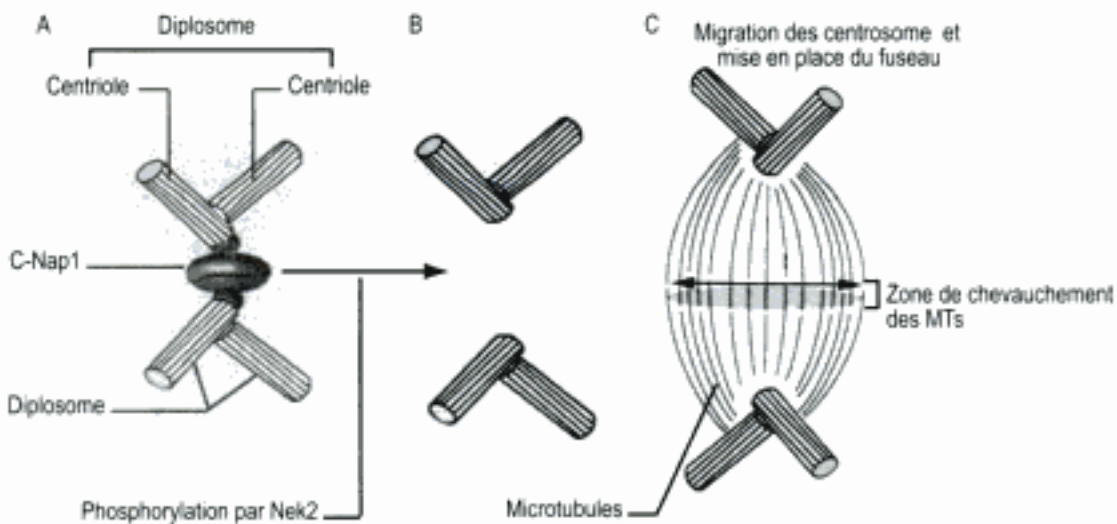


Fig. 20.6

Séparation de deux paires de centrioles.

A. Centrosome dont les centrioles pères sont collés l'un à l'autre par C-Nap1.

B. Après phosphorylation de C-nap1 par Nek2, les centrioles père se séparent et les deux centrosomes s'éloignent l'un de l'autre.

C. Des protéines motrices (dynéine) interviennent dans la migration des centrosomes : le fuseau mitotique se différencie et s'allonge au fur et à mesure que les deux centrosomes s'éloignent. Noter le chevauchement des MT.

► Septième étape : détachement des centrioles

Le centrosome se dédouble : chaque centrosome contient un centriole père et un centriole fil. Chaque centrosome migre en direction opposée, en suivant l'enveloppe nucléaire, afin de former les deux pôles de l'axe mitotique. Au moment où les cellules sortent de la mitose et entrent en phase G1, le centriole père et le centriole fils ne se disposent plus perpendiculairement l'un à l'autre, mais parallèlement l'un à l'autre. Chez

Xenopus, des inhibiteurs des protéasomes préviennent le détachement des centrioles. De tels phénomènes se déroulent également dans les cellules des mammifères. Ils prouvent que le détachement des centrioles est provoqué par une protéolyse dépendant de l'ubiquitine.

d. Phase G1 (huitième étape) : désassemblage du centrosome mitotique

Les centrioles restent liés par des *fibres protéiques matricielles* qui unissent leurs extrémités proximales. Les protéines péricentriolaires regagnent les noyaux nouvellement formés. Le désassemblage du centrosome est accompagné par des changements importants de l'ultrastructure du diplosome. Par exemple, le halo dense aux électrons, visible autour du ^{PANCIEN}, disparaît après l'anaphase.

4. Fonctions

a. Recrutement du matériel péricentriolaire

Les centrioles recrutent le PCM nécessaire à la nucléation des microtubules et forment ainsi le centrosome.

Les cellules eucaryotes dépourvues de centrioles ne forment pas de centrosome et, surtout, la destruction des centrioles par administration d'anticorps, qui reconnaissent les isoformes des tubulines spécifiques de ces organites, provoque la dispersion des éléments constituant les centrosomes. L'introduction de centrioles intacts dans une cellule provoque l'assemblage des constituants des centrosomes. La mutation de deux gènes chez la drosophile, les gènes *asl* (*asterless* ; sans aster) et *cnm* (centrosomine), provoque une réduction marquée du nombre de microtubules astériens à chacun des pôles du fuseau. Les embryons mutants, homozygotes pour *asl* ou pour *cnm* (qui manque complètement de centrosomine), ne se développent pas : la division cellulaire est très anormale, ce qui démontre que les centrioles jouent un rôle essentiel dans l'assemblage du centrosome et son maintien. Des mécanismes identiques se déroulent chez les vertébrés supérieurs et en particulier chez les mammifères.

b. Assemblage des MT des cils ou des flagelles

Les centrioles agissent également comme des matrices pour amorcer l'assemblage des cils et des flagelles. Ils portent alors le nom de corpuscules basaux et sont attachés à la membrane plasmique par des appendices qui constituent les fibres de transition.

c. Différenciation du fuseau mitotique et sa mise en place (voir chapitre 12, p. 307)

En provoquant la formation du centrosome et donc l'accumulation de molécules responsables de la nucléation des microtubules, le centriole donne naissance aux pôles fusoriaux astraux qui peuvent être correctement disposés par rapport au sillon de clivage. Lorsque la cellule ne contient qu'un seul centriole, il se forme un fuseau bipolaire *monastérien* (monastral), c'est-à-dire ne possédant qu'un seul aster. Le fuseau peut être *anastral* si la cellule ne contient pas de centriole. De tels fuseaux ne sont pas orientés correctement au cours de la division cellulaire. Cette voie acentriolaire de la division cellulaire n'existe pas normalement dans les

Hidden page

C. Matériel péricentriolaire

1. Composition du matériel péricentriolaire (PCM)

Le PCM contient environ une centaine de protéines différentes. La liste ci-dessous énumère quelques protéines qui interviennent dans la nucléation des MT ou établissent des rapports avec les MT :

- **AKAP450** (AKAP : *A Kinase-Anchoring Protein* ; protéine d'ancrage de la kinase A), une protéine géante ;
- la **centrine**, qui possède un motif de ciblage permettant son accumulation dans les centrosomes. Il s'agit d'une protéine de 20 kDa découverte dans le corpuscule basal des algues vertes. Elle existe dans tous les centrioles, les corpuscules basaux, les fuseaux mitotiques, de cellules aussi variées et différentes que celles des algues, des plantes supérieures, des invertébrés, des cellules de mammifères. La centrine joue un rôle essentiel dans la *biogenèse des centrioles* au cours du cycle cellulaire. La destruction ou l'absence de centrine provoque une inhibition de la duplication des centrosomes. Elle intervient également dans le *positionnement* et l'*orientation* du centrosome, la ségrégation des chromosomes ;
- la **cénexine**, une protéine associée uniquement avec le centriole le plus ancien (le centriole père). Le centriole fils ne l'acquiert qu'au moment de la transition de la phase G2/M ;
- la **centrioline** (240 kDa), une protéine d'ancrage, sur le centriole, des protéines de régulation du cycle cellulaire. Cette protéine intervient également dans la stabilité des MT. ;
- la **dynéine**, qui intervient dans l'assemblage de la péricentrine et de la tubuline γ dans le centrosome ;
- la **centrosomine** (CMN), une protéine nécessaire à l'assemblage du centrosome. Les drosophiles mutantes, qui ne synthétisent pas de centrosomine, sont stériles car le centrosome ne peut se constituer. Cette protéine est nécessaire à la formation du fuseau mitotique et également au recrutement de CP60 et 100 (CP : *Centriolar protein* ; protéine centriolaire) ;
- les **cyclines**, qui interviennent dans l'initialisation de la duplication centriolaire ;
- la **katanine**, une ATPase de type AAA. Cette protéine de fragmentation des microtubules utilise l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP pour désassembler les microtubules. Au cours de la mitose, les microtubules fusoriaux subissent d'importantes modifications : une polymérisation au niveau de leur extrémité positive qui est liée au kinétochore et une dépolymérisation à leur extrémité négative qui plonge dans le centrosome. La katanine intervient dans le « *désassemblage* » des MT à leur *extrémité négative* ;
- les **MAP**, protéines associées aux microtubules, qui stabilisent les centrioles ainsi que les dérivés centriolaires (cils, flagelles et corpuscules basaux) ;
- la **ninéine**, une protéine superenroulée responsable de l'ancrage des microtubules sur le centriole père ;
- la **nucléophosmine**, particulièrement abondante dans le nucléole : c'est une chaperonne indispensable à la duplication centrosomale, elle se localise dans les centrosomes non dupliqués ;

Hidden page

Hidden page

Hidden page

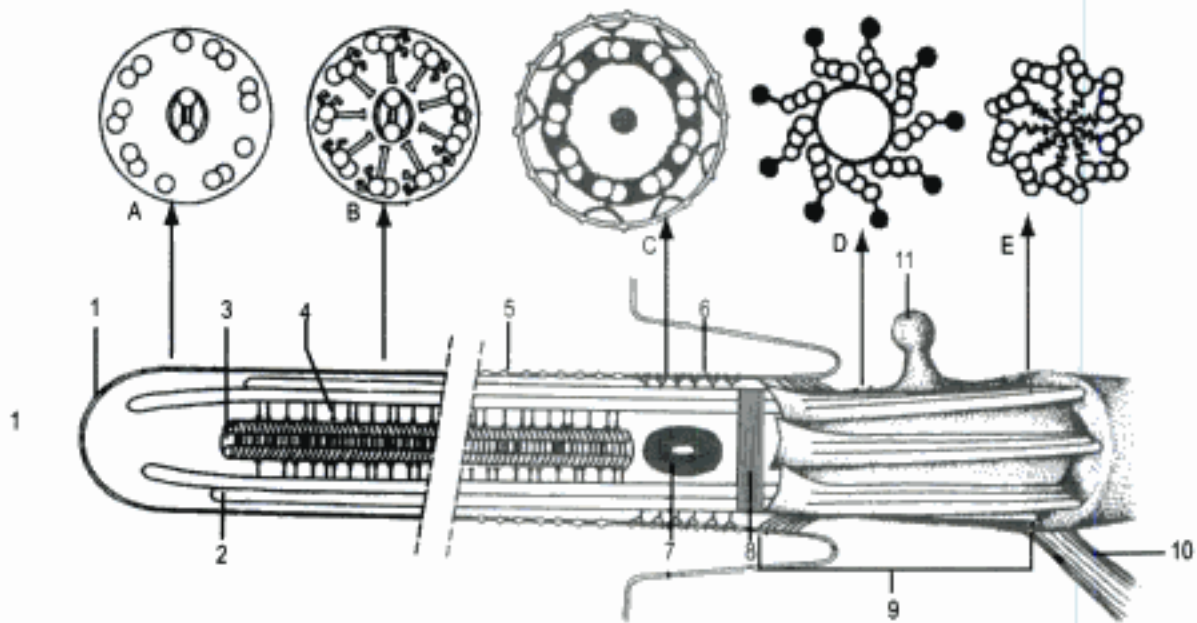


Fig. 20.9

Représentation schématique d'un cil vibratile en microscopie électronique.

1. Membrane plasmique. 2. Doublet. 3. Tubules centraux entourés de leur gaine. 4. Fibres radiantes. 5. Granules intramembranaires (zone proximale de la membrane ciliaire). 6. Collier. 7. Vésicule ciliaire. 8. Plaque basale. 9. Corpuscule basal. 10. Racine ciliaire. A, B, C, D, E. Coupes transversales. 11. Pied basal.

a. Les neuf doublets périphériques

Neuf doublets sont disposés (fig. 20.9 et fig. 20.10) au voisinage de la membrane plasmique de la tige. Chaque doublet est constitué de deux microtubules, le MT A et MT B. Le MT A est plus proche du centre du cil que le MT B.

Le MT B est plus large, moins dense au rayonnement électronique que le MT A. Ces MT ont un diamètre compris entre 18 à 22 nm. Ils possèdent sur toute leur longueur une paroi commune constituée par trois à quatre protofilaments. Chaque doublet est distant de 50 nm de ses voisins.

Les MT A portent deux bras de *dynéine* (un complexe protéique de 2 000 kDa contenant une ATPase) qui viennent au contact des MT B : ces deux bras de dynéine sont dirigés dans le sens des aiguilles d'une montre (en supposant que l'œil soit placé sous la tige ciliaire et regarde en direction de l'extrémité libre du cil). Ils sont disposés tout au long du microtubule B et distants les uns des autres de 13 nm. Ils sont absents à la base de la tige. Les bras externes se terminent par *trois têtes globulaires* et les bras internes par *deux*. Un long filament de *tektine*, une molécule fibrillaire (de 2 à 3 nm de diamètre) apparentée aux filaments intermédiaires, longe la paroi du doublet entre le MT A et le MT B. La *tektine* pourrait déterminer les positions, sur les MT, de structures périodiques comme les fibres rayonnantes (bras radiantes), les molécules de *nexine*, etc.

Les neuf doublets périphériques sont unis par des filaments (ou ponts) de *nexine* (165 kDa) tendus entre les MT A et B. La ligne droite unissant les centres de chacune des sections transversales des MT du doublet forme

■ Les MT des cils et également ceux des centrioles sont plus stables que la majorité des MT cytoplasmiques (par cycle cellulaire, ils échangent environ 10 % de leur tubuline). Cette stabilité dépend de modifications post-transcriptionnelles de la tubuline. La tubuline α , immédiatement après sa synthèse, subit une polyglutamylation (attachement des polymères de l'acide glutamique aux chaînes latérales de certains résidus d'acide glutamique).

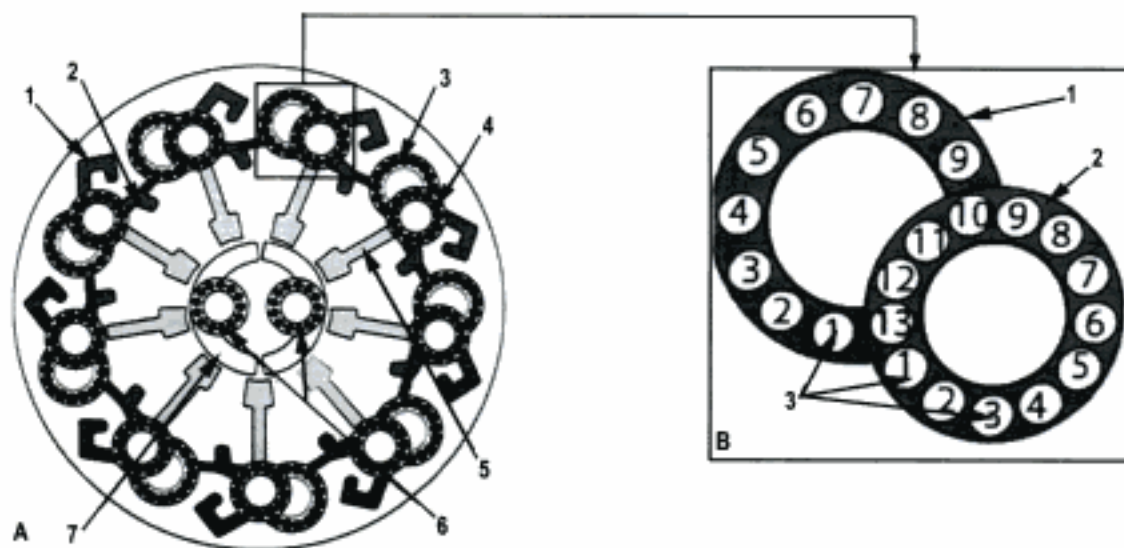


Fig. 20.10

Structure de l'axonème.

A. 1. Bras de dynéine externe. 2. Bras de dynéine interne. 3. microtubule B. 4. microtubule A. 5. Rayon. 6. Double microtubule central. 7. Gaine centrale.

B. 1. Tubule B. 2. Tubule A. 3. Protofilaments.

un angle de 5 à 10° avec une ligne tangentielle à la surface ciliaire, en un point opposé du doublet.

b. Les deux MT centraux

Une paire de MT centraux (20 nm de diamètre et paroi épaisse de 5 à 7 nm) occupe le centre de l'axonème. La ligne passant par le centre de ces MT est perpendiculaire à la direction du battement des cils. Ces MT possèdent chacun une extrémité qui, à la base de la tige, est située juste au-dessus de la zone de transition : les extrémités opposées sont séparées de la membrane plasmique de l'extrémité de la tige par un court espace. Une *gaine centrale* entoure les MT centraux.

c. Les bras radiaires

Des *bras radiaires* réunissent les MT A à la gaine centrale. Ils s'insèrent linéairement tout le long du microtubule A : ils se terminent à proximité de la gaine centrale par un renflement. Sur chaque *microtubule A*, les bras radiaires sont groupés par trois ; ils sont respectivement distants de 24 et de 32 nm avec une périodicité de 96 nm. Les groupes de trois sont séparés par un espace de 40 nm.

d. Plan de symétrie de l'axonème

Le *plan de symétrie* de l'axonème passe par le doublet 1 et entre les doublets 5 et 6. Des numéros de 1 à 9 permettent de désigner les doublets. Le doublet 1 est celui dont la fibre radiaire est perpendiculaire à une droite passant par chacun des axes des deux tubules centraux. Les bras externe et interne de dynéine sont orientés dans le sens des aiguilles d'une montre lorsque les coupes sont observées de la base du cil vers son extrémité libre.

2. Zone de transition

Elle se situe entre la tige et le corpuscule basal ; suivant l'origine des cils, elle peut être intracytoplasmique ou limitée par la membrane plasmique du cil. De toute manière, à son niveau :

- les deux microtubules centraux s'interrompent ;
- une *plaque basale*, encore appelée *axosome*, placée fréquemment au-dessous de la région où s'arrêtent les microtubules centraux, obture cette zone dans sa partie supérieure : elle a la valeur d'un *centre organisateur* des deux MT centraux et contient des germes de nucléation donc de polymérisation ;
- la membrane cellulaire est caractérisée par un regroupement de protéines membranaires mises en évidence par les techniques de cryodécapage : cette région porte le nom de *collier ciliaire*. Les protéines intramembranaires sont unies aux doublets par des liens délicats. Le collier ciliaire est une adaptation de la membrane plasmique de la base ciliaire, qui correspond à la zone de flexion du cil. Ce collier renforce la base ciliaire et limite l'amplitude du mouvement. Chez les mammifères et les protozoaires, les doublets périphériques passent la plaque basale et sont en continuité avec les microtubules A et B du corpuscule basal.

3. Corpuscule basal

Dans sa forme la plus simple, le corpuscule basal a 500 nm de long et 120 à 150 nm de large ; il est de forme cylindrique. Les parois du cylindre sont constituées par 9 triplets (3 MT dont 2 se prolongent dans l'axonème). Au niveau de la plaque basale, les triplets délimitent une circonférence ; à l'autre extrémité, l'axe passant par le centre de chaque microtubule d'un triplet s'incline de 50° par rapport au rayon du cylindre qu'il délimite. Le microtubule additionnel situé en dehors du tubule B est désigné sous le nom de microtubule C. Le MT A de chaque triplet est lié au MT C du triplet voisin par une ligne dense de 4,5 nm d'épaisseur. Neuf lamelles, ou fibres de transition associent les triplets à la membrane plasmique. Un dispositif en « roue de charrette » occupe la base du corpuscule basal : il peut parfois occuper la totalité du corpuscule.

4. Racine ciliaire

Cette racine ciliaire résulte de l'association de microfilaments parallèles les uns aux autres, où alternent des zones denses et claires (fig. 20.11). Elle part du corpuscule basal et, en fonction du type cellulaire, plonge plus ou moins loin dans le cytoplasme. Comme ces zones denses et claires sont placées au même niveau d'un filament à l'autre, la racine ciliaire a un aspect strié dont la périodicité est de l'ordre de 70 nm. L'angle compris entre la racine ciliaire et le prolongement intracellulaire de l'axe de la tige est généralement aigu.

C. Battement ciliaire

1. Mouvements des cils

Si l'axonème est indispensable aux mouvements ciliaires, la structure 9 doublets + 2 tubules centraux qui est la plus fréquente n'est pas obligatoire. Des modèles différents existent : par exemple, 9 + 1 chez les vers

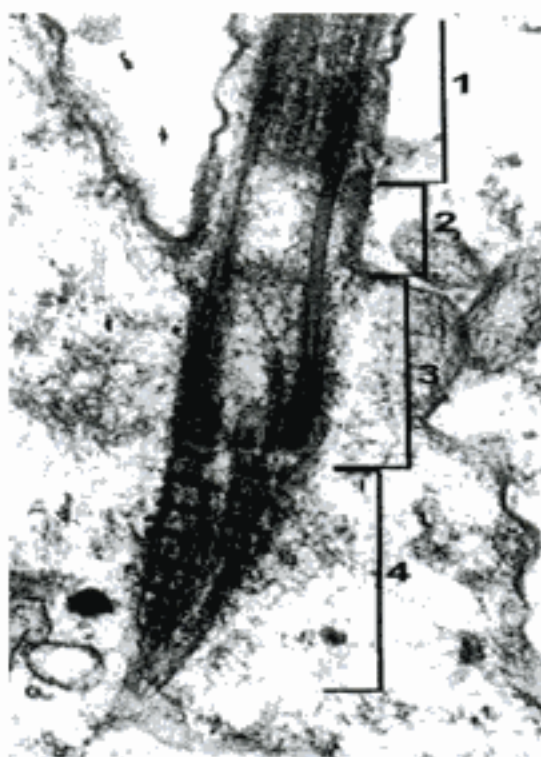


Fig. 20.11

Cil et racine ciliaire.

1. Tige ciliaire. 2. Zone de transition. 3. Corpuscule basal.
4. Racine ciliaire (aspect strié).

plats, 9 + 0 dans les flagelles des spermatozoïdes de l'anguille, chez l'éphémère ou la limule. L'analyse de la forme du battement du cil est rendue difficile par la rapidité du mouvement. Un cil a entre 600 et 1 300 battements par minute. La vitesse angulaire est de $12^\circ/\text{ms}$. Pour un cil qui aurait $12\text{ }\mu\text{m}$ de longueur, l'extrémité se déplacerait à une vitesse de $2,5\text{ mm/s}$. Il existe deux types de mouvements en fonction de la nature du cil :

- les mouvements pendulaires au cours desquels la tige reste rigide, sauf à sa base où elle se courbe pour permettre au cil des mouvements d'aller et retour : ce type de mouvement est rare ;
- les mouvements en crochet (fig. 20.12) qui comportent une phase active (ou efficace) et une phase de retour, de telle sorte que les produits liquides ou les particules, balayées par les cils, sont déplacées dans une seule direction.

Ce mouvement se déroule dans un plan perpendiculaire à la membrane cellulaire. Pendant la phase efficace, la tige est en extension, légèrement recourbée ; elle décrit un angle de 180° autour d'un point fixe, qui est la base du collier ciliaire. À la fin de la phase active, alors que l'extrémité distale de la tige continue à se déplacer dans la même direction, le segment proximal commence son mouvement de retour en amorçant une courbure. Le mouvement de retour se poursuit grâce à cette courbure qui gagne progressivement l'extrémité distale de la tige : la tige se redresse et revient à sa position de départ.

2. Mécanisme moléculaire

Au cours des mouvements ciliaires, les MT ne se raccourcissent pas, mais ils glissent les uns par rapport aux autres.

Hidden page

Hidden page

4. Modulation de la vitesse et sens du battement ciliaire

De nombreuses expériences ont été pratiquées sur la paramécie, un infusoire cilié. Lorsqu'une paramécie rencontre un obstacle au cours de son déplacement en avant, la membrane plasmique se dépolymérise, ce qui déclenche l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. L'augmentation du calcium associé à sa protéine de liaison, la *calmoduline*, inverse le sens du battement des cils. La paramécie recule. L'utilisation de substances attirant les paramécies provoque l'ouverture des canaux potassiques, l'hyperpolarisation de la membrane plasmique, l'activation de l'adénylcyclase et la production d'AMPc. L'AMPc déclenche la phosphorylation des protéines axonémiques et provoque une augmentation de la fréquence des battements ciliaires.

D. Groupement de cils en bordure ciliaire

Les bordures ciliaires sont des groupements fonctionnels de cils. Elles sont situées au niveau du pôle apical des épithéliums de mouvement. Ces bordures ont des mouvements coordonnés, c'est-à-dire que les cils s'agitent suivant un rythme isochrone : ils battent en même temps ou selon un rythme métachrone : chaque cil a une position légèrement en avance par rapport à celui qui le précède ; il se forme ainsi des vagues qui cheminent à la surface de l'épithélium (fig. 20.15).

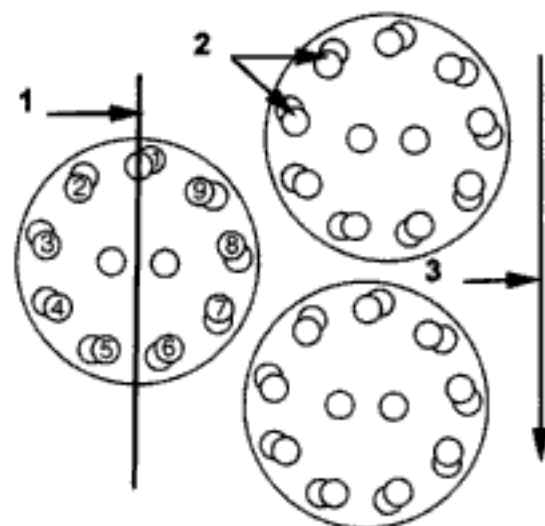


Fig. 20.15

Sens du battement ciliaire.

Bordure ciliaire en coupe transversale (la coupe passe par la tige). Seuls les microtubules sont représentés. L'axonème est disposé de la même manière pour chacun des cils d'une bordure ciliaire. Le mouvement efficace se fait suivant l'axe de symétrie, en direction des microtubules 5 et 6.

1. Plan de symétrie du cil vibratil. 2. Doublets.

3. Sens du battement efficace.

Dans ce type de mouvement, la coordination dépend de la transmission de l'excitation. Il semble qu'elle passe d'un corpuscule basal au suivant et ainsi de suite avec une très grande rapidité. La vitesse de déplacement de particules placées à la surface d'un épithélium cilié est de 6 à 35 mm/min. Les mouvements des cils sont toujours dirigés dans la même direction. Dans une bordure ciliaire, l'axonème de chaque cil a la même orientation (fig. 20.15). L'axonème a une symétrie par rapport à un plan passant par le doublet 1 et entre les doublets 5 et 6 (chaque doublet est numéroté de 1 à 9 dans le sens des aiguilles d'une montre : le doublet numéro 1 étant celui dont le bras radiaire est perpendiculaire à un plan passant par l'axe de chacun des deux tubules centraux). Le mouvement efficace se fait suivant l'axe de symétrie, en direction d'un point situé entre les doublets 5

et 6. Les mouvements efficaces des cils d'une bordure ciliaire se font toujours dans le même sens. Après inversion d'un épithélium bronchique, les cils, au lieu de battre vers la trachée, battent en sens inverse, c'est-à-dire en direction des poumons. La synchronisation des battements dépend de la présence du corpuscule basal.

POINTS CLÉS

- Les *centrosomes* sont des MTOC : ils contiennent un centriole mature et un centriole en cours de croissance pendant les phases S et G₂. Leur paroi est constituée par neuf triplets (trois MT associés). L'extrémité proximale des centrioles en cours de maturation contient un système en « roue de charrette » qui disparaît lorsque le centriole est mature. Les centrioles possèdent parfois des satellites (par ex. au moment de la formation du fuseau mitotique).
- Le *centriole* joue un rôle important dans la division cellulaire en recrutant du matériel péricentriolaire pour former le centrosome. Il intervient également dans la progression du cycle cellulaire en recrutant des molécules de régulation du cycle. Cependant, aucune de ses fonctions n'est strictement essentielle au déroulement de la division cellulaire elle-même.
- Certains centrosomes sont acentriolaires.
- Les centrosomes contiennent de nombreuses protéines, en particulier de la centrine (responsable de la duplication des centrosomes), de la péricentrine (nécessaire à la mitose et à la méiose), de l'actine et de la tubuline γ organisée en un complexe annulaire nécessaire à la nucléation des MT (γ -TuRC).
- Les centrosomes se dupliquent au cours de la phase S. Ils sont responsables de la nucléation des MT, de leur polarité, de la formation du fuseau mitotique et de la régulation de son fonctionnement. Les mouvements de déplacement des centrosomes au cours de la prométaphase dépendent de la dynéine. Les MTOC forment les corpuscules basaux des cils.
- Les *formations ciliaires* se différencient à partir d'un corpuscule basal. Chacune d'elles est constituée par une tige cylindrique qui contient l'axonème (un complexe formé par neuf doublets périphériques et une paire de MT centraux), une zone de transition qui unit la tige au corpuscule basal. Une racine ciliaire s'insère sur le corpuscule basal.
- Les mouvements ciliaires, en crochet, dépendent du glissement des MT les uns par rapport aux autres, glissement provoqué par une protéine motrice, la dynéine, qui possède deux ou trois têtes ayant une activité ATPasique.

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Chapitre 3 – Organisation de la membrane plasmique

QCM

1. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☐ ☐

B : c'est une structure très mobile on parle de fluidité membranaire.

C : l'épaisseur de la membrane est de 7,5 nm donc inférieure au pouvoir séparateur du microscope.

D : l'aspect trilamellaire est dû au caractère osmophile des têtes hydrophiles des composants membranaires.

E : uniquement les protéines transmembranaires.

2. A B C D E
☒ ☐ ☒ ☐ ☐

B : un seul AG.

D : non parfois un seul dérivé glucidique.

E : les sucres se fixent directement sur le glycérol ou la sphingosine.

3. A B C D E
☐ ☐ ☐ ☐ ☒

A : n est toujours pair.

B : les AG insaturés présentent une courbure plus ou moins accentuée selon le nombre de doubles liaisons.

C : sont toujours associés à un glycérol ou une sphingosine.

D : aucun AG n'est ramifié.

4. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☒ ☒

A : par le C3.

5. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☒

C : non.

D : non, les DIG sont plus riches en cholestérol.

6. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☐

A : dépend toujours d'enzymes ATP et calcium-dépendantes.

C : se fait dans les deux sens.

E : c'est l'inverse, il la maintient.

7. A B C D E
☒ ☐ ☒ ☒ ☒

B : les deux feuillets.

8. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☒ ☐

A : les protéines extrinsèques sont situées à la surface du feuillet lipidique, côté extracellulaire ou côté cytoplasmique.

B : les protéines intrinsèques sont dans le feuillet lipidique.

E : par des liaisons hydrophobes avec les chaînes aliphatiques et des liaisons hydrophiles avec les têtes polaires.

9. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☐ ☐

A : il existe des protéines à un seul segment transmembranaire.

C : est automatiquement sous forme d'hélice alpha.

D : non, des récepteurs.

E : non.

10. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☐ ☒

A : mais aussi des glycolipides.

B : non, présence de N-acétylglucosamine, N-acétylgalactosamine.

D : le calcium.

11. A B C D E
☒ ☐ ☒ ☐ ☒

B : ce sont des constituants du cytosquelette.

D : ce sont des constituants du nucléocytsosquelette.

12. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☐ ☒

A : ce ne sont pas des glycoprotéines.

D : ce sont de longues chaînes linéaires.

13. A B C D E
☒ ☐ ☒ ☐ ☐

B : hélices de trois chaînes peptidiques.

D : c'est une glycoprotéine.

E : par des liaisons covalentes entre les acides aminés, notamment les hydrolysines et hydroxyprolines.

Hidden page

guration initiale, libération des K^+ dans le milieu cellulaire.

4. Un inhibiteur compétitif se fixe sur le site de reconnaissance du substrat transporté, un inhibiteur non compétitif se fixe sur le site différent de celui du substrat transporté.

5. C'est une perméase qui ne transporte que de l'eau.

6. Canal transportant des ions dont l'ouverture dépend de la fixation d'un ligand sur la face externe ou la face interne.

Chapitre 5 – Les spécialisations de la membrane plasmique

QCM

- 1.** A B C D E
☐ ☒ ☐ ☐ ☒

A : non, les microvillosités isolées peuvent avoir des variations de diamètre.

- 2.** A B C D E
☐ ☒ ☐ ☐ ☒

A : l'axe du stéréocil est constitué de filaments d'actine.

B : ce sont des récepteurs sensoriels, en aucun cas ils ne servent au déplacement de la cellule.

D : ils sont liés les uns aux autres.

Chapitre 6 – La membrane plasmique et les échanges d'informations

QCM

- 1.** A B C D E
☐ ☒ ☒ ☐ ☐

A : c'est le passage du signal dans la cellule sans passage de la molécule qui a transporté le signal.

D : non, exemple de la signalisation contact-dépendante ou de la signalisation via les jonctions communicantes.

E : les intégrines sont des récepteurs dépourvus d'activité enzymatique.

- 2.** A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☐

- 3.** A B C D E
☒ ☐ ☒ ☒ ☐

B : les récepteurs activés restent à la surface de la membrane cellulaire.

E : les 2 sous-unités ont une activité enzymatique.

- 4.** A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☐

- 5.** A B C D E
☒ ☐ ☒ ☒ ☒

B : c'est la sous-unité alpha qui est capable de fixer le GDP/GTP.

QROC

1. Les cellules émettent un signal pour s'activer elles-mêmes ou pour activer des cellules de même type.

2. Molécule produite après activation d'un récepteur et entraînant une réponse biologique.

3. Le récepteur une fois fixé son ligand s'associe aux trois sous-unités de la protéine G, provoquant le remplacement du GDP par du GTP, la sous-unité $\alpha + GTP$ se détache pour aller activer une enzyme cible. Cette activation provoque l'hydrolyse du GTP en GDP et la réassociation des trois sous-unités de la protéine G.

4. Enzyme catalysant une phosphorylation.

5. Le ligand traverse la membrane, se fixe sur son récepteur cytoplasmique puis va dans le noyau activer la transcription d'un gène.

6. Dans la synapse l'acétylcholine se fixe sur un récepteur qui est un canal sodique, cette fixation entraîne l'ouverture du canal et l'entrée des ions.

7. La sphingomyélinase clive la sphingomyéline et produit un céramide qui aura une fonction de second messager.

Hidden page

QROC

1. 1,5 kDa.
2. Baisse du pH, augmentation de Ca^{2+} , phosphorylation des connexines.
3. Homotypiques les passages de molécules se font dans les deux sens, hétérotypiques un sens de passage est favorisé.

4. Correspond au matériel situé dans l'espace intercellulaire.
5. Les desmocollines et desmogleïnes.
6. Les cadhérines.
7. C'est l'association de différentes jonctions : exemple jonction serrée, puis jonction adhérente de type ceinture et enfin desmosome.

Chapitre 9 – Le cytosquelette

QCM

1. A B C D E
☐ ☐ ☐ ☒ ☒

- A :** il existe une forme γ .
B : non, c'est le couple ADP/ATP.
C : non, mais possède un site de fixation pour le Mg^{2+} .

2. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☐ ☒

- D :** la polymérisation est plus rapide à une des deux extrémités.

3. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☐ ☐

- A :** elle se fixe sur l'extrémité positive et est capable de casser des microfilaments.
B : elle se fixe sur les monomères d'actine et empêche la polymérisation.
D : elle intervient dans la formation des réseaux d'actine.
E : non, à la membrane plasmique.

4. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☐

- C :** elle associe les microfilaments non contractiles.
E : la nucléation se fait par association de trois actines sans autre molécule.

5. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☐

- B :** l'intégrine est associée à la taline, elle-même associée à la vinculine qui est accrochée aux filaments d'actine.
C : les fibroblastes font des points focaux lors de leur déplacement.
E : cf. réponse B.

6. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☐

- A :** ce sont des faisceaux serrés non contractiles donc ayant tous la même polarité.
C : l' α -actinine est spécifique des faisceaux contractiles.
E : c'est la fimbrine qui stabilise ces microfilaments.

7. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☒

- C :** la myosine II est composée de deux paires chaînes légères et de deux chaînes lourdes.

8. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☒

- C :** il contient les microfilaments d'actine, de titine et de nébuline.
D : c'est la bande M qui est au centre du disque A.

9. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☐ ☒

- A :** ce sont les microfilaments d'actine qui glissent le long des microfilaments de myosine.
B : le Ca^{2+} se fixe sur la troponine.
D : la tête de myosine interagit avec l'actine.

10. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☐ ☒

- A :** non, 55 kDa.
B : au moins sept isoformes : $\alpha \beta \gamma \delta \epsilon \eta \xi$.
D : seule la sous-unité β a un site où le GTP peut être échangé avec le GDP.

11. A B C D E

☐ ☒ ☐ ☒ ☐

12. A B C D E

☒ ☐ ☐ ☐ ☒

B : dans l'axonème des cils et flagelle, les microtubules sont stables.

C : c'est l'extrémité moins qui est localisée vers le centriole.

D : les MAP tapissent l'extérieur du microtubule.

13. A B C D E

☒ ☐ ☐ ☐ ☐

B : mais permettent le transport des ARNm.

C : les microtubules ne s'associent à aucunes jonctions membranaires.

D : c'est un réseau d'actomyosine qui participe à la cytodérèse.

E : non, mais participent aux transports axonémaux.

14. A B C D E

☐ ☒ ☒ ☒ ☐

A : ce sont des protéines moteurs.

E : la colchicine détruit les microtubules.

15. A B C D E

☒ ☐ ☐ ☐ ☒

B : non, huit.

D : les neurofilaments sont capables de s'associer aux microtubules.

16. A B C D E

☒ ☐ ☐ ☐ ☒

B : les lamines sont nucléaires.

C : il n'existe pas de drogue dissociant les réseaux de filaments intermédiaires.

D : leur formation se fait par autoassemblage sans utilisation d'ATP.

17. A B C D E

☐ ☒ ☐ ☐ ☒

A : l'élément de base est une molécule fibrillaire.

C : en deux types : le type I les acides, le type II les neutres et basiques.

D : non, il y a alternance d'acides aminés hydrophiles et hydrophobes dans une séquence hautement répétée.

18. A B C D E

☒ ☒ ☒ ☐ ☒

D : il n'existe pas de protéine séquestrant les monomères.

QROC

1. Les microfilaments d'actine entre 6 et 8 nm ; les filaments intermédiaires entre 8 et 10 nm ; les microtubules 25 nm.

2. Les monomères se détachent d'une extrémité dite négative, d'autres monomères se fixent à l'autre extrémité dite plus, par ce processus le polymère semble se déplacer dans le prolongement de l'extrémité dite positive.

3. La cytochalasine D se fixe sur l'extrémité positive et empêche la polymérisation.

4. L'hydrolyse de l'ATP par l'actine se fait après la polymérisation ; il existe une coiffe d'actine ATP à l'extrémité positive.

5. La nucléation est la fixation d'une 3^e molécule d'actine G sur un dimère ; cette association va stabiliser la structure et permettre une élévation du microfilament.

6. On utilise des fragments de myosine ou méromyosine lourde qui se fixent de façon polarisée sur le microfilament ; l'extrémité négative a un aspect pointu, l'extrémité positive a un aspect barbé.

7. Grâce à la myosine I et avec hydrolyse d'ATP.

8. Les filaments serrés sont de même polarité et sont associés par de la fimbrine ou de la villine, les filaments contractiles sont de polarité inversée et associés par de l' α -actinine.

9. Fixation d'ATP sur la myosine II, le Co^{2+} libéré du RE se fixe sur la troponine qui va déplacer la tropomyosine, interaction myosine/actine, hydrolyse de l'ATP provoquant un changement de configuration de la myosine et donc un glissement du filament d'actine.

10. C'est la formation d'expansions cytoplasmiques dans les cellules se déplaçant.

11. Les filopodes, les lamellipodes et les pseudopodes.

12. Les monomères s'associent en dimère de même polarité, puis ces dimères s'associent de façon décalée les uns par rapport aux autres et de façon antiparallèle. Les tétramères ainsi formés s'alignent pour donner les protofilaments. Un filament intermédiaire est constitué de huit protofilaments.

13. Pendant l'embryogenèse ou la régénération, les neurones contiennent principalement de la nestine et de la périphérine et une fois matures, les neurones contiennent essentiellement des neurofilaments.

14. Un homopolymère est constitué d'une seule et même molécule, exemple la vimentine, la desmine.

15. C'est une tubuline α qui a perdu ses deux derniers acides aminés : la tyrosine et l'acide glutamique.

16. La tubuline A2 est le marqueur des microtubules stables.

17. C'est un complexe multiprotéique contenant de la tubuline γ qui est nécessaire à la nucléation des microtubules.

18. Les Tau et les HMW.

19. La tubuline associée au GTP favorise la polymérisation du microtubule, la tubuline associée au GDP favorise la dépolymérisation.

20. Il favorise la polymérisation des microtubules.

21. Les vésicules utilisent des MAP, motrices, les dynéines, pour aller vers l'extrémité négative et la kinésine vers l'extrémité positive.

22. 50 %.

23. La forme en tube leur donne plus de résistance aux phénomènes physiques que les réseaux constitués de filaments.

24. Le site de fixation du GTP étant enfoui dans la molécule, une fois le dimère formé, il ne peut plus fonctionner.

25. C'est une MAP de fragmentation ATPasique.

Chapitre 10 – Le noyau

QCM

1. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☐ ☐

A : non, cela varie selon les types cellulaires et l'activité de la cellule.

B : il y a aussi les kératinocytes.

D : un syncytium est le résultat d'une fusion de plusieurs cellules.

E : non l'hétérochromatine est dense aux électrons, l'euchromatine ne l'est pas.

2. A B C D E
☐ ☐ ☐ ☐ ☒

A : non, les mitochondries contiennent de l'ADN.

B : non, il est constant dans une espèce à partir de la blastula.

C : 15 %.

D : par l'enveloppe nucléaire qui comporte deux membranes.

3. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☒ ☒

A : non, il est associé aux lamines.

4. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☒

C : c'est 10 %.

5. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☐ ☐

A : il est monocaténaire aux extrémités.

C : c'est le 2-désoxyribose.

D : la base est associée en position bêta.

E : les associations reposent sur des liaisons hydrogènes.

6. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☒

7. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☒

A : un nucléosome est un octamère 2 X (H2a, H2b, H3 et H4).

C : les régions où s'initie la réplication.

8. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☐ ☒

B : c'est l'ADN linker.

C : 10 nm, 2 nm correspond au diamètre de l'ADN.

D : c'est d'un facteur 7.

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Hidden page

- 11 A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☒

A : elles sont au nombre de 500.
C : la séquence est éliminée dans la matrice.

- 12 A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☒

B : les transporteurs sont différents : Tom pour la membrane externe et Tim pour la membrane interne.
C : elles passent par la matrice où elles perdent leur première séquence signal.

- 13 A B C D E
☒ ☐ ☒ ☐ ☐

B : les acides gras sont véhiculés par la carnitine.
E : perte de deux carbones.

- 14 A B C D E
☐ ☐ ☒ ☒ ☐

A : la succinodéshydrogénase est une protéine membranaire.
E : les produits de dégradation des protéines ; les acides aminés peuvent être dégradés dans le cycle de Krebs.

- 15 A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☐

C : le complexe II n'est pas couplé à un transport de protons.
D : le transport se fait de la matrice vers la chambre externe.
E : il n'y a pas de dégagement de chaleur.

- 16 A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☒

C : c'est la sous-unité β qui est capable de faire de l'ATP.

- 17 A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☐

B : les acides aminés essentiels proviennent de l'alimentation.
C : elles initient seulement le début de la synthèse.
E : non.

Chapitre 14 – Le système endomembranaire

QCM

1. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☐

2. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☐ ☒

3. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☒

4. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☒ ☒

A : elles sont monomériques.
B : seule la forme GTP est associée à la membrane, la forme GDP est libre dans le cytosol.

5. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☐

C : les SNARE font partie intégrante de la membrane.
D : la protéine Sar1 se détache en même temps que les SEC.

E : la giantine et la P115 interviennent avant dans le processus de reconnaissance entre la vésicule et le compartiment accepteur.

6. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☒ ☐

A : sont recouvertes par des coatomères.
B : est GTP-dépendante.
E : elles perdent aussi le manteau de coatomères.

7. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☐ ☒

A : il existe quatre types différents.
D : les SNARE sont indispensables à l'adressage des vésicules.

8. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☒ ☒

A : il diminue avec le processus de maturation des protéines.

Hidden page

6. Grande taille, se forme par des expansions cytoplasmiques et non des invaginations, enfin non recouvertes de clathrine.

7. Les vésicules à clathrine, les vésicules non recouverte et les cavéoles.

Chapitre 16 – Ribosomes et réticulum endoplasmique

QCM

1. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☒ ☒

A : les sous-unités sont différentes.

2. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☐

C : les ribosomes sont constitués de 21 protéines pour la petite sous-unités et 31 pour la grosse sous-unité.

E : sont incapables de se corriger.

3. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☐

A : ils sont aussi présents dans les mitochondries.

C : 40 %.

E : les composants des deux sous-unités sont différents.

4. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☐ ☐

A : elle démarre du côté de la coiffe guanosine méthylé en 5'.

B : elle arrive avec la 1^{re} ARNt et des facteurs d'initiation.

D : il est décalé par rapport à l'extrémité 5'.

E : il se positionne dans le site P.

5. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☐

C : non, dans le site P.

D, E : l'ARNt porteur du nouvel acide aminé entre dans le ribosome associé avec un facteur d'élongation et du GTP.

6. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☐

C : il est reconnu par le facteur RF.

D : AUG est le codon initiateur.

E : il a son extrémité COOH libre.

7. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☒ ☐

A : il représente 10 à 15 % du volume de la cellule.

B : il se présente sous forme de tubules ou de citerne.

E : il est en étroite association avec le REG.

8. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☐

B : la SRP est un complexe ribonucléoprotéique.

C : le translocon est le complexe faisant traverser la membrane du RE à la chaîne peptidique.

E : elle n'intervient que dans l'adressage du ribosome au RE.

9. A B C D E
☐ ☐ ☐ ☐ ☒

A : la SRP est recyclée.

B : elle peut être dans la séquence en AA : cas des protéines à traversée unique.

C : une protéine transmembranaire single pass ; selon la charge des AA, l'extrémité NH₂ peut se situer dans le cytoplasme ou dans la lumière du RE.

D : le translocon s'ouvre libérant la protéine dans le feuillet lipidique.

10. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☐ ☐

A : c'est un acide gras à longue chaîne.

D : il se fait quand l'arborisation de sucres comporte sept résidus.

F : il se fait sur une asparagine.

11. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☐ ☐

A : est constituée par un glycosyl phosphatidylinositol.

B : se met en place sur la face interne du REG.

D : toujours du côté COOH.

E : elle ne peut pas se détacher du feuillet lipidique.

12. A B C D E
☒ ☒ ☒ ☐ ☐

D-E : elles sortent du RE par les translocans pour être détruites par le protéasome.

13. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☒

C : la synthèse des sphingolipides a lieu dans le Golgi.

14. A B C D E
☒ ☐ ☒ ☐ ☒

B : les acides gras sont associés au coenzyme A.

15. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☒

B : c'est une hydroxylation de la molécule toxique.

C : Ca^{++} est complexé à la calsequestrine.

QROC

1. Pour les procaryotes respectivement 30 et 50 S, pour les eucaryotes 40 et 60 S.

2. Le facteur eIF3 empêche leur association.

3. Les sites A, P et E.

4. C'est un complexe ribonucléoprotéique composé d'un ARN et de peptides.

5. UAA, UAG et UGA.

6. Deux N-acétylglucosamine, neuf mannoses et trois glucoses.

7. Le mouvement flip flop du dolichol se fait quand l'arborescence glucidique contient sept sucres.

8. Le dolichol.

9. La synthèse des lipides se fait sur le feuillet cytosolique.

10. Les protéines mal configurées sont reconnues par des chaperonnes, elles sont ensuite envoyées dans le cytosol via le translocon, après ubiquitination elles sont détruites par le protéasome.

11. L'ancre GPI est constituée d'un glycophasphatidylinositol.

12. Le 3-HMG CoA est un intermédiaire de synthèse du cholestérol.

13. Des protéines d'échange prélèvent le phospholipide du feuillet cytosolique du REL ou l'acheminent et l'incorporent dans la feuillet cytosolique de la membrane externe de la mitochondrie.

14. Protéine chaperonne contrôlant le repliement des glycoprotéines dans la lumière du RE.

15. C'est la pompe permettant au Ca^{2+} de rentrer dans le RE.

16. Il intervient dans le processus de détoxification en hydroxylant la molécule toxique.

Chapitre 17 – L'appareil de Golgi

QCM

1. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☒

B : est constitué par des empilements de saccules appelés dictyosomes.

C : varie selon l'état physiologique de la cellule.

2. A B C D E
☒ ☒ ☒ ☒ ☒

3. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☐ ☒

A : elle diminue de 70 à 60 %.

D : elles sont de plus en plus saturées.

4. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☐ ☐

A : uniquement des vésicules.

D : les COP II sont uniquement entre le RE et le Golgi.

E : il dépend de la kinésine.

5. A B C D E
☒ ☐ ☒ ☒ ☐

B : les sialyltransférases sont dans les saccules trans.

E : les transporteurs ADP/ATP sont dans les saccules médian et trans.

6. A B C D E
☒ ☒ ☒ ☐ ☒

D : les phosphatases acides sont dans les saccules trans.

7. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☒

A : les canaux chlore sont dans le TGN.

C : les récepteurs ERD sont dans les saccules cis et médian.

8. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☒

9. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☐

B : sur une fonction hydroxy.

C : intéressent aussi les protéoglycanes.

E : c'est un processus distinct.

10. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☐ ☐

D : les sucres sont véhiculés par des nucléotides.

11. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☒

B : par endopeptidase et exopeptidase.

C : il a lieu dans le RE.

12. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☒

A : en deux étapes.

C : les acides aminés sont dispersés et à distance des chaînes oligosaccharidiques.

13. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☒ ☒

14. A B C D E
☒ ☒ ☒ ☐ ☐

QROC

1. En partant du RE on a d'abord le CGN, puis de ce CGN on observe plusieurs empilements de saccules qui forme un dictyosome, chaque dictyosome se terminant par un TGN.

2. En partant du CGN on a successivement les saccules cis, médian et trans.

3. Au réseau de microtubules.

4. C'est le passage des vésicules du RE vers le CGN.

5. Les vésicules COP II sont présentes dans le transport rétrograde du CGN vers le RE ; les vésicules COP I sont responsables des transports à l'intérieur du dictyosome et d'une partie des transports vésiculaire entre le CGN et la membrane plasmique le TGN et la membrane.

6. La technique de marquage en pulse chase : on injecte des AA radioactifs dans une cellule puis par autoradiographie on suit le devenir des AA à différents temps.

7. Ils sont associés à des nucléotides (du type UDP ou CMP) dans le cytosol et traversent ainsi la membrane ; on appelle cette molécule un nucléotide de sucre.

8. L'entrée des nucléotides de sucre est couplée avec la sortie d'un nucléotide non porteur de sucre. L'entrée de l'ATP est couplée à la sortie de l'ADP.

9. Une première enzyme accroche à un ou plusieurs mannose(s) un sucre phosphorylé, puis dans une 2^e étape le sucre est éliminé.

10. Ce sont les endopeptidases qui activent les prohydrolases dans le TGN.

11. Le système endosomal, la membrane plasmique, les grains de sécrétion.

Chapitre 18 – Les lysosomes

QCM

1. A B C D E
☐ ☐ ☐ ☒ ☐

A : sont capables de détruire des molécules d'origine cellulaire ou externe.

B : la forme dépend de leur activité.

C : même si le macrophage contient plusieurs milliers de lysosomes, leur taille de 50 nm ne permet pas de les voir en microscopie photonique.

E : sont absents chez les hématies.

2. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☐ ☒

A : les hydrolases sont activées dans les endosomes.

D : ce processus existe.

3. A B C D E
☐ ☒ ☒ ☒ ☐

A : elle en contient plus que le RE ou le Golgi.

E : il est dans le feuillet luminal.

Hidden page

10. Après endocytose, les récepteurs se détachent de leur ligand dans les endosomes précoces et sont directement recyclés vers la membrane plasmique ; ils ne sont donc pas au contact des hydrolases qui arrivent plus tardivement dans le processus.

11. La maturation consiste en une modification de la membrane du phagosome ; les protéines de la membrane plasmique sont recyclées et remplacées par des SNARE et des protéines G qui interviennent dans les processus d'adressage des vésicules.

12. Lors de la dégradation de grains de sécrétion surnuméraires, les lysosomes fusionnent directement avec ces grains : c'est le processus de crinophagie.

13. Une toutes les 15 min.

14. La chambre de résorption.

15. Phospholipoprotéines partiellement dégradées, pigments du type lipofuscines, pigments biliaires et ferritine.

16. Ce sont des empilements de monocouches de phospholipides.

17. C'est le TGN qui entoure les organites ou la partie cellulaire à détruire.

18. Un autophagosome possède deux membranes, un autophagolysosome n'a plus qu'une membrane.

19. Les transporteurs de type ABC.

20. Elles doivent porter d'une séquence KFERQ et être ubiquitinylées.

Chapitre 19 – Les peroxysomes

QCM

1. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☒ ☒

A : ils sont capables de se multiplier.

B : ils possèdent une simple membrane.

2. A B C D E
☐ ☐ ☒ ☒ ☒

A : la plaque marginale n'est que partielle.

B : le nucléoïde est un cristal d'unicase.

3. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☒ ☒

B : ils permettent sa destruction.

C : participent à la synthèse du cholestérol.

4. A B C D E
☐ ☒ ☐ ☒ ☐

A : c'est l'inverse.

C : il n'y a pas de glycoprotéines dans le peroxysome.

E : c'est une enzyme de la matrice.

5. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☒

6. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☒ ☐

C : $2RCHOHCOOH + O_2 \leftrightarrow 2RCOCHOH + 2H_2O$.

D : méthanol aldéhyde formique.

7. A B C D E
☒ ☐ ☒ ☒ ☐

B : par des ribosomes libres du cytosol.

E : elles peuvent avoir déjà une organisation tridimensionnelle.

8. A B C D E
☒ ☒ ☒ ☒ ☐

E : ceci n'est valable que pour les enzymes lysosomales.

9. A B C D E
☒ ☐ ☐ ☐ ☐

B : les mitochondries détruisent aussi les AG de moins de 20 carbones.

C, D : C'est le processus dégradant les AG ramifiés.

E : il y est synthétisé.

10. A B C D E
☒ ☒ ☐ ☐ ☐

C : ils participent au métabolisme de la lysine, la sérine et l'alanine.

D : l'énergie libérée est convertie en chaleur.

E : ils participent à leur catabolisme.

Hidden page

Hidden page

Ouvrages conseillés

- Alberts B. et coll. *Biologie moléculaire de la cellule* (4^e édition). Flammarion, Paris, 2004.
- Alliet J, Lalegerie P. *Biologie cellulaire*. Ellipses, Paris, 1998.
- Basaglia F. *L'essentiel de la biologie cellulaire*. Maloine, Paris, 2005.
- Callen, J.C., Perasso R. *Biologie cellulaire, des molécules aux organismes*. Dunod, Paris, 2005.
- Cooper G.M., Hausman R.E. *The cell, a molecular approach*. ASM Press, Washington, 2003.
- De Duve C. *La cellule vivante*. Belin, Paris, 1987.
- Karp G. *Biologie cellulaire et moléculaire*. John Wiley and Sons, New York, 2004.
- Krstic R.V. *Ultrastructure of the mammalian cell*. Springer-Verlag, New York, 1979.
- Maillet M. *Atlas de cytologie et de biologie cellulaire. Travaux pratiques*. Masson, Paris, 1986.
- Maillet M. *Biologie cellulaire 300 QCM*. Masson, Paris, 2002.
- Maillet M. *Dictionnaire des abréviations en biologie*. Masson, Paris, 1995.
- Poirier J., Ribadeau-Dumas J.L. *Histologie moléculaire*. Masson, Paris, 1999.
- Stryer L. *La biochimie*. Flammarion, Paris, 1985.
- Weil J.H. *Biochimie générale*. Dunod, Paris, 2005.

Index

3-méthyl-histidine, 168
 α -actinine, 126, 149, 176-180
 α -hydroxy-oxydase, 538
 β -oxydation, 373, 543
 γ -TuRC (gammaosome), 205, 560-561

A

Accélélerine, 221
Acétyl CoA, 373-374, 473, 544-545
Acétylcholine, 96, 109
Acétylcholinestérase, 68
Acide aminé
– arachidonique, 113
– γ aminobutyrique, 109
– production des précurseurs, 378
Acide gras, 54-56
– α -oxydation, 543
– β -oxydation, 373, 543
– élongation, 475
– insaturé, 55
– lysobisphosphatidique, 515
– lysophosphatidique, 177
– N-acétylneuraminidique, 73
– okadaïque, 427
– phosphatidique, 474, 505
– saturé, 55
Acrosome, 527
ActA, 189
Actine, 67, 173
– Arp associée, 172
– cycle de polymérisation, 174
– G, 168
– isoforme, 168
Activateur
– transcription, 125
Activation
– caspase, 346
– intégrine, 127
– récepteur, 109
Activine, 121
Acyl-CoA synthétase, 357, 373

Adaptateur, 266
Adaptine, 402, 419, 553
Addition
– post-transcriptionnelle, 256
Adducine, 182-183
Adénovirus, 28, 290
Adénylcyclase, 116
Adhérence, 77, 99, 101, 105, 126-127, 131-140
– focale, 126
– sélective, 135
Adhésion
– hétérotypique, 131
– homotypique, 131
Adipocyte, 198, 220
ADN
– mitochondrial, 365
– polymérase
– – I, 234
ADN
– centromérique, 301, 304
– dégradation internucléosomique, 348
– dénaturé, 43
– eucaryote
– – réplique, 237
– glycosylase, 242
– hélicase, 233
– linéaire, 237
– linker, 222
– méthylation, 227
– mitochondrial, 365
– modèle en boucle, 299
– polymérase, 234, 241
– – α , 239
– – β , 239
– – δ , 239
– – ϵ , 239
– – γ , 239
– – II, 234
– – III, 234
– – télomérique, 240

- primase, 233
- réparation, 234, 239-243
- réplication, 231
- satellite, 227, 251, 301-302
- structure tridimensionnelle, 230
- topo-isomérase, 236, 274, 276
- topo-isomérase II, 325
- transcription, 322
- ADNmt*, 363, 365
- duplication, 363
- héritage maternel, 366
- mutation, 381
- ADP*, 378, 399, 410
- blocage de la phosphorylation, 377
- Adrénodoxine, 360, 378
- réductase, 360
- Adrénoleucodystrophie néonatale, 547
- Agglutinine, 71
- Agrégat tubulovésiculaire, 401
- Agrégation plaquettaire, 181-182
- Aldostérone, 111, 474
- Amas mitotique golgien, 506-507
- AMPc*, 116, 159, 569
- Amphicrine, 494
- Amphipathique, 64
- Amphiphile, 54, 57, 368
- Amphipolarité, 54
- Amplificateur, 244, 251, 253
- Analogue fluorescent, 39
- Anaphase, 334
- A, 334
- B, 335
- Anilline, 337
- Ankyrine, 65, 67, 182-183
- Anneau
- contractile, 179, 337
- contraction, 338
- cytoplasmique, 261
- de TCP-1, 205
- de tubuline γ , 205
- luminal, 261-262
- nucléoplasmique, 261-262
- Annexine, 342
- II, 63
- Anticodon, 245-246, 366-367, 450, 452
- Anticorps, 40
- anti-actine, 167
- antidynamine, 427
- anti-kinésine, 329
- anti-protéine kinétochorienne, 304
- de lait, 341
- fluorescent, 167
- Antigène, 40
- d'histocompatibilité, 75
- de la pemphigoïde bulleuse, 162
- de surface, 75
- des groupes sanguins, 136
- M et N, 70
- origine, 471
- présentation, 472
- récepteur, 125
- spécifique des virus, 27
- Antiport, 91, 496
- Apaf-1*, 348
- AP-endonucléase, 243
- Apo-B-protéine, 424
- Apoptose, 340-349, 353
- altération cellulaire, 341
- cancer, 348
- contrôle, 380
- déroulement, 341
- origine mitochondriale, 345
- sida, 348
- Apoptosome, 346
- Appareil
- basal de transcription, 249
- de Golgi, 22
- Appendice distal, 553
- Aquaglycéroporine, 89-90
- Aquaporine, 89
- Arbre de Noël, 250
- Arf1*-GTP, 400
- ARN*, 245
- 18 S, 448
- 28 S, 448
- 5 S, 448
- 5,8 S, 448
- amorce, 233-234, 239-240
- contrôle de la transcription, 285
- mature, 243
- messenger, 452
- mitochondrial, 367
- phase d'élongation, 247
- polymérase
- – fonction, 246
- – I, 248, 282, 326
- – II, 248, 272
- – – promoteur, 248
- – III, 248
- – transcription, 284
- primase, 234
- ribosomal, 448
- synthase, 325
- ARNg*, 256-257

- ARNm**, 245
 – dégradation, 258
 – histone, 254
 – reconnaissance, 453
 – transfert, 257
ARNmt, 363
 – synthèse, 367
ARNr
 – 5 S, 285, 287
 – de clivage, 283
 – de transport, 268
 – maturation des précurseurs, 286
 – mature, 281
 – synthèse, 284
ARNt, 245
 – gènes, 250
 – initiation, 455
 – transport, 268-269
Arthrite rhumatoïde, 341
Arylsulfatase, 516
Aspirine, 113
Aster, 327
Ataxie de Friedreich, 382
ATP, 209
 – déphosphorylation, 378
 – devenir, 378
 – synthèse, 353, 361, 493
 – synthèse, 376
ATP/ADP, 360, 492
 – AP1, 402
 – AP2, 402
 – AP3, 402
 – malate/Pi, 360
ATPase, 39
 – mitochondriale, 376
 – type F, 376
 – type V, 378, 493
AUG, 453-454
Autocrinie, 113, 115
Autophagie, 158, 522, 525
Autophagolysosome, 513, 523
Autophagosome, 513
 – formation, 523
Axonème, 203, 562, 564
Axosome, 565
B
Bad, 345-347
Balle terminale, 284-285
Bande 3, 65, 182-183
Bande 4.1, 183-184
Barrière trans-épithéliale, 184
Bax, 345
Bcl-2, 345-348
Bicouche lipidique, 25, 27, 50, 61-62, 64, 66-67, 91
BimC, 329-330
Blocage de la réplication, 243
Boîte
 – CA1A2X, 276
 – F, 320
 – HMG, 275-276
 – TATA, 244, 248-249
Bordure
 – ciliaire, 567, 569
 – en brosse, 100-101
Boucle
 – D, 245-246
 – PSTAIRE, 310
 – T, 245-246
Bouton synaptique, 110
Branche acceptrice, 245
Bras radiaire, 564, 569
Bréfeldine, 400, 429, 436, 539
Brévine, 175
Brin, 240
 – léger, 365
 – lourd, 365
 – matrice, 231
 – matriciel, 234, 242, 247-248
 – précoce, 233, 235, 239, 241
 – – synthèse, 235, 239
 – retardé, 235-236
Bulle de transcription, 247-248
C
Ca⁺⁺-ATPase, 477
Cadhérine, 127, 131, 133, 148-150, 153-154, 181
 – classique, 135
 – desmosomale, 135
 – E, 134, 146, 149-150, 155
 – K, 134
 – N, 134-135
 – non classique, 135
 – OB, 134
 – P, 134-135
 – VE, 134
Cadre de lecture, 245
CAK, 309, 311, 317
Calcium, 361
 – activation par la gelsoline, 408
 – apoptose, 380
 – canal ionique, 426
 – cytosolique (régulation), 379
 – dysfonctionnement mitochondrial, 382

- libération, 416, 477
- messenger cytosolique, 504
- migration des vésicules, 407
- protéine de liaison, 477, 569
- réservoir, 352
- stockage, 260, 477, 504
- Caldesmone, 176
- Calmoduline, 96, 101, 158, 176, 180, 437, 477, 552, 569
- Calréticuline, 342, 400, 469-470, 477
- Calséquestrine, 477
- CAM, 131
 - I, 133
 - Ig, 131-132
 - L, 133-135, 137, 139
 - N, 133
- Canal, 361
 - anionique, 356
 - biliaire, 144
 - Ca^{++} , 95
 - chlore, 492-493
 - de fuite du potassium, 94
 - de sélectivité, 93
 - hydrophile, 93-94
 - ionique, 65, 93, 103, 115-116
 - – CNG-dépendant, 96
 - – ligand-dépendant, 96
 - – ouverture mécanique, 103
 - – voltage-dépendant, 95
 - KcsA, 92
 - potassique, 92-93
 - sélectivité, 93
 - sodique, 110, 123
 - transmembranaire, 156
- Caperonine
 - Hsp10, 371
- Capping, 69, 254
- Capside, 27, 29
- Capsule, 25, 245
- Cardiolipine, 362
- Carnitine acyl-transférase I et II, 361
- Caryophérine, 265
- Caspase, 269, 341-344, 346-347, 380
- Caténine, 134, 146, 149-150, 153
- Cathepsine, 512, 515
- Cavéole, 63, 410, 418, 425-430
- Cavéosome, 410, 427-428, 432, 443
- Cdc25, 309, 318-320, 323
- Cdc25A, 314, 319, 324
- Cdc25B, 323
- Cdc25C, 323
- Cdk, 238-239, 309-314, 316-325, 327, 332, 338-339
- Cdk1, 238
- Cell coat, 19-20, 50-52, 64, 71-75
- Cellule
 - auditive, 102
 - caliciforme, 501
 - cancéreuse, 46, 77-78, 115
 - de Leydig, 474
 - dendritique, 414
 - des îlots de Langerhans, 119
 - des tubes collecteurs, 90
 - des tubes proximaux, 101
 - dimension, 19
 - diploïde, 220
 - en excès, 340
 - endothéliale, 99, 112, 126
 - épithéliale, 19, 77, 104
 - eucaryote, 19-20
 - génome altéré, 341
 - glandulaire, 80
 - infectée, 340
 - intestinale, 75
 - musculaire lisse, 112-113
 - nerveuse, 114
 - obsolète, 340
 - olfactive, 115
 - phagocytaire, 101
 - procaryote, 19, 24
 - tétraploïde, 220
 - visuelle, 115
- Cénexine, 553, 559
- CENP-E, 304, 335-336
- Centre cellulaire, 23, 51, 208, 326, 396, 489, 550-560
- Centre fibrillaire, 282-284
- Centrifugation
 - isopycnique, 47
 - zonale, 47
- Centrine, 552-555, 558-559
- Centriole, 23, 203-204, 326, 550-558
 - cycle, 327
 - fils, 323
 - père, 326
- Centrioline, 559
- Centromère, 224, 300
 - ponctuel, 301
 - régional, 301
 - séparation, 303
- Centrosome, 550-561
 - acentriolaire, 561
 - mitotique, 555

- Centrosomine, 559
 Céramidase, 516
 Céramide, 56-58, 123, 473, 516
 Cérébroside, 58
 CGN, 389-390, 392, 396-405, 479, 486-490, 496, 498-499, 502
 Chaîne
 – émergente, 222
 – respiratoire, 353, 357, 361-362, 365, 369, 375, 381-383
 – transport d'électrons, 260, 475-476
 Chambre externe, 346-347, 355, 357-360, 371, 375, 378-379
 Chaperonine
 – cytoplasmique, 205
 – Hsp10, 370-371
 – Hsp60, 370-371
 Chaperonne, 365
 – complexe chaperonne-préprotéine, 369
 – du RE, 470
 – du signal nucléaire, 267
 – Hsp70, 404
 – rôle, 368
 Chémokine, 124
 Chimiotactisme, 212, 415
 Cholestérol, 25, 54, 57-60, 62, 67, 111, 515
 – biosynthèse, 473, 544
 – complexe d'importation, 357
 – régulation de la synthèse, 473
 Chondrocyte, 76, 501
 Chondrodysplasie rhizomélique ponctuée, 546
 Chromatide, 224, 298-299, 301, 303, 313, 325, 328, 330-335
 Chromatine, 20-21, 217, 221, 223
 – condensation, 342
 – définition, 221
 – fixation, 279
 – fonctionnelle, 225
 – marginale, 218-219, 272
 – périnucléolaire, 281
 – protéine motrice, 275
 – sexuelle, 221
 Chromosome, 297-304
 – bactérien, 25
 – déplacement, 31, 209
 – disposition en boucle, 279
 – géant, 298
 – métaphasique, 298
 – mitotique, 299
 – organisation, 299
 – polyténique, 298
 – X et Y, 227
 Cil vibratile, 23, 99, 202, 210, 550, 562, 567
 Cinguline, 146
Cis-SNARE, 392-393, 395-400, 404, 408, 436, 439, 443, 515
 CKI, 309-310, 317, 319-320
 Clathrine, 48, 386, 388, 390-391, 398, 402-404, 417-421
 – adaptateur, 388
 Claudine, 145-146
 CMH, 340
 CMH I, 470-472
 CMH II, 40
 CMP-NANA, 496
 Code génétique, 365, 367, 446, 448, 452-455
 – histone, 233
 – mitochondrial, 365
 Codon, 245-246, 450
 – des ARN mitochondriaux, 365-367
 – fin de lecture, 245
 – initiateur, 245
 Coefficient de partition, 85
 Cofiline, 173-175, 187
 Cohésine, 303, 313, 324, 333, 335
 Coiffage
 – dans les plaquettes, 181
 – du transcrit, 254
 Coiffe
 – 5' de l'ARNm, 269
 – CapZ, 175
 – de l'extrémité des MF, 170, 175
 – de l'extrémité positive des MF, 205
 – de tubuline β -GTP, 206
 – des microfilaments d'actine, 181
 – des snRNA, 269
 – gelsoline, 175, 181
 – migration du lymphocyte, 69
 – protéine, 174-175
 – triméthyl G, 266
 Colchicine, 101, 206, 211-212
 Collagénase, 515, 527
 Collagène, 76
 – fibrillaire, 76
 – I, II, III, 76
 – IV, 76, 78-80, 103, 139, 162
 – lame basale, 103-104
 – non fibrillaire, 78
 – VII, 77, 80, 162
 – XVII, 162
 Collier ciliaire, 565-566
 Colorant
 – acide, 35-36

- basique, 35-36, 221
- concentration, 379
- fluorescent, 39, 167
- liposoluble, 38
- supravital, 354
- Coloration
 - de Gram, 26
 - négative, 36-37, 75, 171, 221-222, 363
- Compartiment, 386
 - acide, 378
 - cis-golgien, 390
 - donneur, 386-388, 393
 - interchromatinien, 271
 - intermédiaire, 432-434
 - médian, 487
 - receveur, 386-387
 - trans, 487
- Compartmentation, 20, 80, 217, 487
- Complexe
 - clathrine/AP, 386, 388, 390, 402-403, 424, 432
 - cycline A/Cdk1, 310
 - cycline B/Cdk1, 324
 - cycline D/Cdk4, 312, 316-318, 321, 339
 - cycline D/Cdk6, 312
 - cycline E/Cdk2, 312, 317-319, 321
 - cycline/Cdk, 312, 318-319, 321
 - - phase S, 319, 321
 - d'importation du cholestérol, 357
 - de jonction, 143, 160, 182-183
 - de préreplication, 238, 269
 - de remodelage, 226
 - du pore nucléaire, 260, 263
 - dystroglycane, 189
 - F_0 , 352, 376
 - F_0 - F_1 , 376
 - FcR, 415-416, 431
 - I, 362, 365, 375
 - II, 362, 375
 - III, 362, 375
 - IV, 362, 375
 - majeur d'histocompatibilité, 40, 272, 429, 470
 - ORC-Cdc6p-Cdt 1, 238
 - profiline-actine-ATP, 174
 - promoteur de l'anaphase, 324
 - rayonné, 261-262
 - sarcoglycane, 189
 - Sec13/Sec31, 393-396
 - Sec23/Sec24, 393-395, 397
 - snoRNP, 284, 287
 - thymosine-actine-ATP, 174
- Composant
 - fibrillaire dense, 283
 - granulaire, 283
- Concanavaline A, 71
- Condensine, 275, 280, 298, 303, 324-325
- Connexine, 115, 156-160
- Constriction primaire, 298-300, 304, 325
- Contact focal, 148, 178-179
- Contraction
 - de l'anneau contractile, 338
 - des myofibrilles, 194
- Corona, 304
- Corps
 - apoptotique, 340-342
 - de Cajal, 271, 273-275
 - intermédiaire, 337-338
 - mini-nucléolaire, 289
 - multivésiculaire, 413, 423, 432, 434, 438-439, 441, 443
 - prénucleolaire, 289
 - résiduel, 519, 523-524
 - spiralé, 271, 273-274
- Corpuscule
 - basal, 51, 557, 559, 562, 565
 - de Barr, 221, 227, 272
- Cortex cellulaire, 172, 179, 185, 190, 203, 329, 331
- Cortisol, 474
- Courbe de fusion, 43
- Crête mitochondriale, 356-359, 365
 - surface, 359
- Crinolososome, 526
- Crinophagie, 526
- Cristallin, 211
- Cross-talk phenomenon*, 113
- Cryodécapage
 - cavéole, 425
 - jonction occlusive, 145
 - membrane plasmique, 51-52
 - technique, 38
- Cryofracture
 - protéine membranaire, 66
 - technique, 37
- Culture cellulaire, 46
- Cyanophycée, 26
- Cycle
 - cellulaire, 307, 339
 - centriolaire, 554, 558
 - citrique, 374
 - de Krebs (tricarboxylique), 363, 374
 - régulation, 309
 - - de la progression, 558

- Cycline, 310-312, 559
 – B1, 324
 – B1/Cdk1, 324
 – D/Cdk4, 316, 318, 339
 – E/Cdk2, 339
 – phase S, 317
 Cytaster, 561
 Cytochalasine, 172, 187, 416
 Cytochrome
 – b5, 66, 260, 475-476, 491-492, 538
 – c, 345-347, 357, 371, 375, 380
 – oxydase, 362, 365, 375, 459
 – P450, 260, 360, 378, 460, 474, 538
 Cytodièrese, 219, 275, 290, 303, 337-338, 363
 Cytokératine, 24, 154, 161, 196-198, 201, 227
 Cytokine, 124-125, 146
 Cytosol, 24
 Cytosquelette, 23-24, 36, 52, 69-70, 101, 135, 139, 166-211
- D**
 d-amino-oxydase, 539
 Dédifférenciation
 – des microvillosités, 101
 – du plateau strié, 211
 Défense immunitaire
 – stratégie d'évitement, 472
 Défensine, 416, 521
 Dépendance d'ancrage, 137, 140
 Dépolymérisation
 – des MF, 172, 187
 – des MT, 101
 Dépôt lipidique, 380
 Dermatoïde bulleuse, 154
 Déshydrogénase, 39
 – de Krebs, 374
 – malate, 374
 – NADH, 374
 Desmine, 24, 154, 192, 196-199
 Desmocolline, 134-135, 152-153, 155
 Desmoglée, 153
 Desmoglénine, 134-135, 152-153
 Desmoplakine, 153-155, 162
 Desmosome, 134-135, 148, 151-155, 161
 – ceinturant, 148, 198
 Désoxyribonucléase, 224, 274, 347
 Désoxyribonucléotide, 228-230, 240
 Détoxification, 459, 476, 545
 DFF, 347-348
 Diacylglycérol, 63, 416, 474, 476, 505
 Diaminobenzidine, 536
 Diapédèse, 99, 126, 136-137
 Dictyosome, 22, 486, 491-492
 Différenciation membranaire, 20, 50, 99
 – des microvillosités, 101
 – du pôle apical, 103
 Diffusion, 84
 – facilitée, 86, 89
 – latérale des protéines, 60
 – – technique d'étude, 68
 – simple, 84
 DIG, 62-63, 475
 Digitaline, 87
 Dimère stable, 119
 Dimérisation du récepteur, 118, 125
 Disque
 – A, 191-192
 – H, 193
 – I, 192
 Docking, 396
 Dolichol, 465
 – phosphate
 – – glycosylation, 465-467
 Domaine
 – centromérique, 301
 – cytosolique, 123
 – de mort, 343
 – GAR, 285
 – N-terminal de liaison, 124
 – RRM, 285
 – SH2, 118
 Dopamine, 109
 Doublet périphérique, 562-563, 565
 DPI, 468-470
 DR3/WL-1, 343
 Duplication, 326
 – centriole, 555-556
 – de l'ADN (voir réplication)
 – du centre cellulaire, 326
 Dynamine, 403, 422, 427
 Dynéine, 209, 304, 328, 355, 396, 559, 563, 567
 Dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss, 279
 Dystrophine, 176, 189, 193-194
- E**
 Échange
 – d'information, 108-126
 – régulation, 270
 Échangeur
 – bande 3, 91
 – $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, 91
 – Na^+/H^+ , 91
 Édition, 256-257

- Effecteur, 113, 121, 146
 - Rab, 392
- Effet de position, 244
- EGF, 117, 120, 308
 - récepteur, 434, 441
- Eicosanoïde, 111, 113
- eIF2, 453
- Élongation
 - de la molécule d'ADN, 234-235
 - de la molécule d'ARNm, 249
 - des acides gras, 475
- Endocytose, 20, 413-430
 - couplée à des récepteurs, 419
 - de l'insuline, 442
- Endolysosome, 513, 517-518, 521-523
- Endonucléase, 224, 257-258, 287
- Endopeptidase, 501, 515
- Endosome, 22, 423, 431-443
 - biogenèse, 435
 - composants de la membrane, 440
 - de tri, 434
 - défense de l'organisme, 436
 - distribution du cholestérol, 442
 - évolution, 438
 - fonction, 441
 - fusion avec les lysosomes, 443
 - infection virale, 442
 - précoce, 418, 424, 432
 - recyclage, 441
 - tardif, 432, 439
- Entactine, 78-79, 162
- Entérocyte, 63, 91, 100-102, 143-144, 146, 149, 211
- Enveloppe nucléaire, 258-260
 - fragmentation, 290, 309, 324, 328
 - réassemblage, 337
- Enzyme
 - glycosylation, 460
 - pancréatique, 494
- Épidermolyse bulleuse, 162
- Épissage, 245, 254-256, 274
- ERGIC, 489
- Erk, 119
- Érythrocyte, 53
- Espace
 - interchromatinien, 218, 272
 - périnucléaire, 260
- Espaceur
 - intergénique, 284
 - intragénique, 284
 - transcrit
 - – clivage, 287
- Euchromatine, 20, 218, 221, 223, 225
- Excision, 242-243, 255
 - réparation, 243
- Exocytose, 110, 407, 507
 - continue ou constitutive, 405
 - discontinue, 405
- Exon, 243, 245, 250
- Exopeptidase, 516
- Expérience de Frye et Edidin, 69
- Exportation, 269-270
 - de l'ARN 5S, 269
 - de l'ARNm, 269
 - des protéines nucléaires, 267
- F**
 - F₀/F₁-ATPase, 361
 - Facteur
 - AIF, 346-347, 357, 380
 - d'activation des plaquettes, 137, 181
 - de croissance, 116, 308-309, 315-316, 343, 347
 - de désassemblage des MT, 208
 - de transcription, 121-123, 125, 154, 225-227, 244, 247-255, 320-322, 344
 - DFF, 347
 - élongation EF2, 327, 435
 - promotion de la maturation, 307
 - protéique non snurp, 255
 - FAD, 374-375
 - FADD, 343-344
 - Faisceau
 - contractile, 176
 - d'actine, 75
 - d'actine non contractile, 176
 - d'électrons, 34
 - de microfilaments, 99, 101, 103, 179-180
 - laser, 33, 68
 - serré, 179-180
 - FAK, 127, 139, 181
 - Famille
 - ABC, 514
 - Bcl-2, 380
 - cis-SNARE, 515
 - de transporteurs GDP-dépendant, 379
 - dynamine, 363
 - Hsp70, 369
 - JAK, 125
 - p16, 310
 - p21, 310
 - Rab, 128
 - Rho, 128, 189-190, 197
 - SMC, 325
 - src, 125

- Farnésylation, 316
 Farnésyle, 67, 277
Fas, 343-344
 Fascia, 144
 Fascicline III, 133
FasL, 343, 348
 Fécondation, 184, 315, 366, 527, 561
 Ferritine, 41, 71, 75, 257, 354, 379, 382, 435, 523
 Fibre
 – chironème, 225
 – chromatinienne, 221, 223, 272
 – d'actine, 102
 – d'ancrage, 163
 – d'interconnexion des centrioles, 551, 554
 – de collagène (*voir* collagène)
 – de la lamina, 277
 – de la matrice nucléaire, 278
 – de Purkinje, 156-157
 – de tension ou de stress, 126, 176-178, 181, 190
 – fusoriale, 350
 – hyperspiralisée, 228
 – kinétochorienne, 351
 – musculaire, 134, 167, 190-192, 199
 – nerveuse, 95
 – – cholinergique, 112
 – – myélinisée, 95
 – nucléosomique, 221-227, 231, 323, 325, 337
 – – organisation, 274
 – – régions spécialisées, 234
 – – signification, 224
 – périchromatinienne, 272-273
 – protéique matricielle, 557-558
 – rayonnante, 563
 Fibrilarine, 274, 283, 289
 Fibrille
 – nucléaire, 261
 – périchromatinienne, 255, 272-274
 Fibrinogène, 221
 Fibroblaste, 517
 – culture, 211-212
 – en cours de migration, 178, 180, 186
 Fibronectine, 74, 76-77, 126, 132, 138-139, 178-179
 Figure myélinique, 524
 Filaggrine, 201
 Filament intermédiaire, 153, 196
 Filamine, 126, 175-176, 184-185
 Filipine, 428
 Filopode, 180, 182, 186, 188, 190
 Filtre canalaire, 93
 Fimbrine, 100-102, 176, 179-180
 Flagelle, 25, 185, 203-204, 210, 355, 550, 557, 559, 562, 566
 Flip-flop, 60, 466, 468
 Flippase, 61, 473, 475, 478
 Floppase, 60
 Fluidité
 – de la double couche lipidique, 58-59
 – membranaire, 55, 58, 187
 Fluorochrome, 32-33
 Flux membranaire, 408-409, 427, 443, 463
 – centrifuge, 409, 463
 – centripète, 409-410
 – vectoriel permanent, 463
 Fonction de tri, 490, 502
 – du CGN, 490, 502
 – du TGN, 503
 Formation
 – de gel, 176
 – de l'actine F, 170
 – de la cape, 212
 – de la chaîne polypeptidique, 357
 – de la coiffe, 69
 – des fibres de tension, 177
 – des hémidesmosomes, 162
 – des jonctions occlusives, 147
 – des MT, 204
 – des pseudopodes, 183
 – des vacuoles de macro-autophagie, 505
 – des vésicules
 – – à hydrolases, 517
 – – COP II, 393
 Fourche de réplication, 232-233, 235, 237-238, 323
 Foyer de réplication, 240
 Fragment d'Okazaki, 236, 245
 Fragmine, 175
Freezing-etching, 51
 Fronde de fougère, 250
 Fuseau mitotique, 331
 – différenciation, 557
G
 G1-post-mitose, 316
 G1-post-synthèse, 316
 Gaine centrale, 564
 Gammosome (γ -TuRC), 215
 Ganglioside, 58
GAP, 119, 266-268, 395, 400
 – *junction*, 115, 155
GDI, 91

GDP, 390-391
 – fucose, 465
 – glucose, 465
 – mannose, 465
 – ras, 128
GEF, 391, 399
 Gélactine, 176
 Gelsoline, 175, 181, 185
 Géminine, 238
 Gène, 243
 – actif, 272
 – ARN ribosomal, 281
 – de classe I, 243, 250
 – de classe II, 243, 250
 – en cours de transcription, 250
 – inactif, 272
 – mitochondrial
 – – mutation, 382
 – *PEX*, 541
 Génistéine, 427
 Génome mitochondrial, 365-366
 Géranyle, 57
 Géranylgéranyle, 57
GFA, 196
Ghost, 53
 Giantine, 396
 Glande nasale, 104
 Glucagon, 158, 494
 Glucose 6-phosphatase, 475
 Glucuronocouplage, 477
GLUT4, 121
 Glutamate, 109
 Glutaraldéhyde, 36
 Glycérol, 55
 – kinase, 356
 Glycérophospholipide, 55
 Glycine, 109
 Glycocalyx, 71
 Glycolipide, 56-57, 73, 75, 478
 Glycophorine, 73
 – A, 64
 Glycoprotéine, 70, 72, 75, 80, 498
 Glycosphingolipide, 57
 Glycosylation, 70, 496
 Glycosyl-phosphatidylinositol, 58, 67
 Glycosyltransférase, 465, 470, 498
 Glypiation, 467
GM130/GRASP65, 396
GMP, 123, 544
GMPc, 96, 112, 123
GPI, 67, 88, 467
 Gradient de concentration, 85

Grain
 – de sécrétion, 501, 503, 507
 – maturation, 406-407
 – périchromatinien, 273
 Gram, 26
 – négatif, 26
 – positif, 26
 Granule interchromatinien, 273
 Groupe sanguin, 73, 75
GTP, 390-391
GTPase
 – ARF, 388, 403
 – monomérique, 128
 – Rab, 396, 515
 – Ran, 266, 269
 – Ras, 128
 – Rho, 190
 – Sar1, 388, 507

H

H^+ ATPase, 361, 433
 Hélicase, 233-236, 268, 453
 Hélice de Lysen, 363, 373, 375
 Hématie, 53-54, 65, 73, 91, 182, 218, 220
 Hémidesmosome, 104, 148, 161-163, 251
 Hétérocaryon, 69-70
 Hétérochromatine, 20, 218, 221, 223, 226-228
 – constitutive, 226, 301
 – facultative, 227
 Hétérolysosome, 513, 523-524
 Hétérophagie, 518-520
 Hétéroplasmie, 381
 Hexokinase, 356
 Histochemie, 37-41
 Histone, 20, 222-228, 231, 251, 263, 265
 – acétylation, 251
 – H1, 222
 – phosphorylation, 325
 – variant, 222
 Hormone
 – corticosurrénale, 111
 – hypoglycémiant, 408, 437
 – insuline, 437-438
 – – régulation de la glycémie, 442
 – peptidique, 111
 – stéroïdienne, 111-112, 378
 – thyroïdienne, 441
 Hsp70, 424
 – apparentée, 462
 – dénudation des vésicules à clathrine, 404
 – voie dépendante, 369
 Hyaluronidase, 74

Hydrolase, 511, 515
 – prolysosomale, 516
 Hypercholestérolémie familiale, 424
 Hyperoxalurie de type 1, 545

I

IcsA, 189
IGF, 121, 308
 Îlot
 – CpG, 227
 – de Langerhans, 119, 211, 408, 494, 501
 – de sphingolipides, 62
 Immunocytochimie
 – directe, 41
 – indirecte, 41
 Immunoglobuline, 131, 468
 Importation
 – d'acide gras dans la matrice mitochondriale, 371-372
 – des protéines caryophiles, 266
 Importine
 – α , 265-266
 – β , 266
 Inactivation nucléolaire, 290
INCENP, 303, 337
 Inclusion, 25
 Information épigénétique, 222
 Inhibine, 121
 Inhibiteur
 – compétitif, 88
 – de l'apoptose, 303
 – de la dépolymérisation des MT, 172
 – des complexes de la phase S, 319
 – des kinases, 427
 – des protéines kinases, 309
 – exogène de la polymérisation, 206
 – non compétitif, 88
 Inhibition de contact, 46, 70, 135
 Initiation
 – codon, 365
 – de la chaîne protéique, 367
 – de la synthèse des protéines, 453
 – de la traduction, 452
 – facteur d'initiation, 469
 Inositol triphosphate, 416
 Insuline, 442, 494
 Intégrine, 77, 126, 131, 137, 140, 178, 181
 Interaction
 – cis, 132
 – trans, 132
 Interdigitation, 105
 Interféron, 124
 Interleukine, 123-124

Internalisation, 416
 – des cavéoles, 427
 – des puits recouverts, 421
 – signal, 420
 Interphase, 298, 313
 Intimine, 101-102
 Intron, 234, 243, 251, 255
IRS, 121
 Isoprénnylation, 67
 Isotope radioactif, 243, 397

J

Jonction
 – adhérente, 134-135, 148
 – communicante, 115, 143, 155, 157
 – – fonction, 158
 – d'ancrage, 142-143
 – étanche, 144
 – intercellulaire, 20, 142
 – intermédiaire, 147-148, 160
 – lacunaire, 155
 – occlusive, 143-144
 – serrée, 142, 144
 – *tight junction*, 144

K

Kendrine, 552-553
 Kératine, 197
 – acide, 197
 – basique, 197
 – neutre, 197
 Kératinocyte, 90, 154, 197, 201, 218, 220
 Kinase
 – Akt, 347
 – ATM, 318
 – ATR, 318
 – Aurora B, 298, 325, 337
 – CHK1, 318
 – CHK2, 318
 – Polo, 320, 324
 Kinésine, 209, 355, 408
 – motrice, 329
 Kinétochore, 301-303, 328-329
 – fonction, 305
KRP, 304

L

Lac, 251
 Lamé basale, 77-80, 154
 Lamellipode, 180, 186
 Lamina
 – dense, 77
 – fibroreticularis, 77

- fonction, 278
- lucida, 77
- nucléaire, 275-276
- sous-membranaire, 277
- Lamine, 196, 200, 276
- désassemblage, 277
- Laminine, 76, 78-80, 103, 139, 162
- Laminopathie, 279
- Lamp, 442
- 1, 502, 512-513
- 2, 513, 525
- LAP1, 260, 278
- LAP2, 260, 278
- LDL, 424-425
- contrôle de la synthèse, 425
- non-internalisation, 424
- récepteur, 390
- spécifique, 424
- structure, 424
- Lectine, 75, 136
- Leucine tritiée, 494-495
- Leucoaminopeptidase, 75
- Leucotriène, 113
- Liaison
- covalente, 66
- hétérophile, 131
- homophile, 131
- N-glycosidique, 73
- non covalente, 66
- O-glycosidique, 73
- Ligand, 63, 96, 108-109, 117, 120, 122, 156
- Ligase, 234, 242
- Lipide, 54-63
- importation des lipides mitochondriaux, 371-372
- synthèse, 505
- Lipodystrophie, 279
- Lipofuscine, 513, 523-524
- Liposome, 54, 160
- Lupus érythémateux, 341
- Lymphocyte, 74
- mécanisme de reconnaissance, 74
- répartition des immunoglobulines, 68
- T et B, 40
- Lymphokine, 124
- Lymphome de Burkitt, 348
- Lysosome, 23, 511-529
- biogenèse, 516
- fonction, 525
- primaire, 513
- secondaire, 513

M

- M6P-R*, 439-441, 499-501, 516-518
- Macrophage, 40, 124, 414, 512, 521, 528
- Macropinocytose, 183, 429-430
- Macropinosome, 183, 429
- Macula, 143-144
- Maladie
- acantholytique, 154
- auto-immune, 341
- d'Huntington, 382
- de Charcot-Marie, 279
- de Down, 302
- de Kennedy, 382
- de Niemann Pick type C, 442
- de Pompe, 529
- de Refsum, 546
- de surcharge, 529
- lysosomale, 528-530
- peroxysomale, 546-547
- Maltase, 75, 101
- Mannose 6-phosphate, 300, 460, 516
- MAP, 206-209, 357
- de fragmentation, 208
- de liaison, 208
- déstabilisatrice, 208
- motrice, 209
- site de fixation, 207
- stabilisatrice, 207
- MAP-kinase, 119, 321
- ras, 119
- MAR, 278-279, 300
- Matériel péricentriolaire, 550, 557, 559-560
- Matrice
- centrosomale, 560
- contrôle de l'ADN, 279
- extracellulaire, 76
- fixation des chromosomes, 299-300
- localisation de la réplication de l'ADN, 322
- mitochondriale, 362
- nucléaire, 239, 274-276
- peroxysomale, 540-541, 543-544
- MCAK, 208, 305, 335
- Mdm2, 288
- Mécanisme d'échappement, 521
- Mégacanal, 361
- Mek, 119
- Mélange fixateur, 35
- Mélanome, 348
- Mellitine, 66
- Membrane
- biogenèse, 462
- interne, 358

- peroxysomale, 535
- plasmique, 20, 50
- – recyclage, 435
- – stabilisation, 189
- Méromyosine lourde, 170
- Mésosome, 25
- Métaphase, 331-334
 - blocage, 333
 - point de contrôle, 332
- Met-ARNT*, 454-455
- Métazoaire, 19
- Méthylation de l'ADN, 227
- Micelle, 54
- Microdissection, 46
- Microdomaine lipidique, 62-64, 425, 429
- Microélectrode, 43-47
- Microfilament, 167-189
 - dépolymérisation, 172
 - polymérisation, 169
- Microscope
 - confocal à balayage, 33
 - contraste de phase, 32
 - électronique à balayage, 34
 - électronique à haut voltage, 35
 - électronique à transmission, 33
 - fluorescence, 32
 - force atomique utilisant l'effet tunnel, 35
 - optique (photonique) en lumière transmise, 31
 - polarisant, 32
- Microtubule, 202-211, 489, 561
 - astérien, 331
 - chevauchant, 331
 - fonction, 210
 - instabilité dynamique, 329
 - interpolaire, 303, 331, 334, 336
 - kinétochorien, 309, 330, 332, 334-335
 - nucléation, 553, 560-561, 565
 - protéine associée, 206-210
- Microvillosité, 20, 99-103, 180
 - différenciation, 101
 - groupée, 100
 - isolée, 99
- Migration cellulaire, 185, 188
- Mimivirus, 27
- Mitochondrie, 21, 345, 352-382
 - concentration de substances, 379
 - fusion, 364
 - membrane externe, 356
 - membrane interne, 357
 - mouvement, 354
 - phylogénèse, 380
 - renouvellement, 363
- Mitochondriodierèse, 363
- Mitofusine, 357, 364
- Mitoribosome, 363, 366-367, 381
- Mitose, 46, 298, 506
- Modèle
 - de Singer et Nicholson, 51
 - maturation, 495
 - transport vésiculaire, 495
- Molécule
 - d'ADN, 229
 - de l'adhésion cellulaire, 131
 - de signalisation, 108
 - SSB, 234
- Monoamine oxydase, 357
- Mononucléose, 348
- Mort cellulaire programmée (voir Apoptose)
- Motif
 - TATAAT, 246
 - TTGACA, 246
- Mouvement
 - amiboïde, 185
 - ciliaire, 565-570
 - de bascule, 60
 - de flip-flop, 458, 466, 505
 - de rotation, 60
 - des chromosomes, 330, 335
 - des mitochondries, 354
 - des pseudopodes, 425
 - en crochet, 566
 - mitochondrial
 - – origine, 355
 - pendulaire, 566
- MPF*, 238, 307, 324, 369
- MTOC* (voir centrosome)
- Muscle squelettique, 477
- MutL*, 242
- MutS*, 242
- Mycoplasme, 19, 24-25
- Myofibrille, 190
 - structure, 192-193
- Myogénèse, 199
- Myosine, 186, 191
 - bipolaire, 337
 - I, 184, 213
 - II, 177, 180, 337
 - segment S1, 195
- Myristoylation, 67
- N**
 - Na^+/K^+ – adénosine triphosphatase, 86
 - N-acétylgalactosamine, 42, 80, 498
 - NADH*, 360, 363, 365, 375, 476

- NADH*-déshydrogénase, 362
NADH-réductase, 375
NADP, 363
 Navette
 – glycérol-phosphate, 360
 – malate aspartate, 360
 – vésicule, 285
N-CAM, 132-133
 Nébuline, 176, 191, 193
 Nécrose, 340-342
 Nestine, 201
 Neuraminidase, 63, 74
 Neurofilament, 199-200
 Neurotransmetteur, 109-110, 112
 Nexine, 552, 563, 568
NFκB, 44
 N-glycosylation
 – achèvement, 496-497, 499
 – début, 465, 467, 470
 Nidogène, 78
 Ninéine, 559
 Nocodazole, 431, 489
 Noir Soudan B, 39
NOR, 250, 283-284, 289, 326
 Noradrénaline, 109, 435
Not self, 74
 Noyau, 217-288
 – stéroïde, 57
 – tétracyclique, 57
NPC, 260-261, 267-270
NPC1, 442
NSF, 393, 397, 399, 443
 Nucléase, 242, 258, 348, 515
 Nucléation
 – de l'actine, 169-170
 – des MF, 187, 553, 555, 557, 559-561, 565
 Nucléocapside, 28
 Nucléoïde, 23, 535, 538
 Nucléole, 20, 218, 280-292
 – compact, 281
 – disparition, 288
 – fonction, 284
 – reconstruction postmitotique, 289
 – réticulé, 282
 Nucléoline, 282-283, 285-286, 289
 Nucléophosmine, 555, 559
 Nucléoplasme, 20, 218
 Nucléopore, 263
 Nucléoside, 96, 228, 234, 246, 249
 Nucléosome, 222-228, 265-266
 – localisation, 224
 – modification, 226, 251
 – site dépourvu, 224
 Nucléosquelette (voir matrice nucléaire)
 Nucléotide, 228
 – cyclique, 96
 N-UDP-acétylglucosamine, 465
- O**
- O-glycosylation, 498-499
 Oligosaccharidase, 516
 Opsonisation, 415, 431
 Origine de la réplication, 224, 236, 319
 Osmiophilie, 50
 Ostéoclaste, 219, 526
 Ostéocyte, 76
 Ouabaine, 87
 Oxyde nitrique, 108
 – synthèse, 112
- P**
- P450* réductase, 460
P53, 281, 288, 314, 319-320
PAF, 137-138, 345, 541
 Palmitoylation, 67
 Pancréas, 133, 155, 224, 494-495, 501
PAPS, 501
 Paracrinie, 113, 115
 Paraformaldéhyde, 36
 Paroi
 – canal aqueux, 64
 – centriolaire, 552
 – colibacille, 25
 – des vaisseaux, 112
 – mitochondriale, 352, 355-356
 – mycoplasme, 26
 – utérine, 159
 Particule SRP
 – assemblage, 288
 – reconnaissance du signal, 461
 Patch-clamp, 44
PCNA, 320
PDGF, 308, 426, 428-429
 Pemphigoïde bulleuse, 162
 Pemphigus, 162
 – vulgaire, 154
 Péricentrine, 560
 Péricodon, 245
 Périphérine, 196, 198-199
 Perlécan, 78-79
 Perméase, 88, 442, 514
 – aspartate/glutamate, 360
 – GLUT, 91
 – malate/ α -cétoglutarate, 360
 – passive, 356

- Peroxine, 537, 539-544, 546-547
 Peroxydase, 23, 536, 538
 – catalase, 538
 – du raifort, 41
 Peroxyde d'hydrogène, 536
 Peroxyne (voir peroxine)
 Peroxysome, 23, 534-537
 – biogenèse, 541
 – fonction, 543
 – multiplication, 541
 – proliférateur, 542
 – signal d'adressage, 540
 – variabilité, 543
 Phagocytose, 62, 183, 519
 – frustrée, 417
 – pseudopode, 183
 – site spécifique d'anticorps, 212
 – vacuole, 211
 Phagolysosome, 414-417, 513, 520
 Phagosome, 211-212, 415-417, 500-501, 519-522
 Phalloïdine, 172
 Phase
 – d'amarrage, 396
 – d'arrimage, 396
 – d'ascension polaire, 334
 – de fusion, 397
 – de transition G1/S, 312
 – élongation, 455
 – G0, 316, 320
 – G1, 298, 313-314
 – M, 298, 325-337
 – S, 241, 298, 321
 Phosphatase, 515
 – acide, 39, 511-512
 – alcaline, 39, 41
 Phosphatidylcholine, 56, 61, 72, 474, 476, 505
 Phosphatidyléthanolamine, 60-61, 63, 72, 460, 474
 Phosphatidylglycérol, 56, 362
 Phosphatidylinositol, 56, 72, 475
 – 4,5 biphosphate PIP2, 416
 Phosphatidylsérine, 56, 61, 474
 Phospholipase
 – C, 68, 416, 498
 – D, 90, 400
 Phospholipide, 55
 – de l'appareil de Golgi, 505
 – de la membrane mitochondriale, 371
 – de la membrane plasmique, 54-60, 63
 – des lysosomes, 515-516, 524
 – du RE, 459-460, 463, 475, 478-479
 Phosphorylation, 118
 Phytohémagglutinine, 75, 290
 Pili, 25, 101
 Pinocytose, 417-425
 – dite « à vésicules lisses », 418
 Placode optique, 211
 Plakine, 201
 Plakoglobine, 134, 149, 153, 155, 198
 Plaque, 126
 – basale, 565
 – cytoplasmique, 149, 161
 – d'adhésion, 148
 – d'ancrage, 80
 – desmosomale, 152-153
 – marginale, 536
 Plaquette, 181-182, 220-221
 Plasmalogène, 544
 Plasmode, 219
 Plateau strié, 92, 99-100, 211
 Plectine, 154, 162-163, 201
 Pléiomorphisme, 360
 Pneumoconiose, 528
 Point
 – d'adhérence focale, 126
 – de contact focal, 190
 – de contrôle
 – – G1/S, 313
 – – G2/M, 313
 – – métaphase-anaphase, 313
 – – qualité de l'ADN, 339
 – – ségrégation des chromosomes, 313
 – R ou de restriction, 316
 Polarité cellulaire, 188
 – maintien, 211
 Polyadénylation extrémité 3', 254
 Polymérisation
 – des MF, 169-175, 180, 187, 189-190
 – des MT, 202-203, 205-208
 Polynucléaire neutrophile, 126, 186, 188, 414-415, 519, 521
 Polyribosome formation, 457
 Polysaccharidase, 516
 Polysome, 457-459
 – libre, 458
 – lié au REG, 459
 Polyubiquitinylation, 471
 – de la sécurine, 314, 333
 – des cyclines, 312
 Pompage des protons, 375
 Pompe, 86
 – à protons, 406-407, 426, 431, 493, 505, 514, 527

- F, 378
- H⁺-ATPase, 433
- sodium, 86
- V, 514
- Pore, 20
 - anionique voltage-dépendant, 356
 - aqueux, 89-93
 - d'hémolyse, 53
 - de fission, 422
 - modification du nombre, 270
 - nucléaire, 260-264, 266-273, 275, 277, 280
- Porine, 356, 370
- PPAR, 542
- PRb, 317, 321
- Pré-ARNm, 257, 274, 276, 280, 285
- Pré-ARNr, 283, 285-287, 289
- Précurseur
 - ARNr, 281
 - oligosaccharidique, 465-466
- Prégnénolone, 278, 380, 474
- Prélysosome, 440
- Pré-MPF, 324, 339
- Pré-pro-insuline, 407
- Préprotéine, 368-370
- Préribosome, 282, 286, 288
- Présentation des antigènes, 470
- Primosome, 233-234
- Procaspase, 342-347, 357
- Procollagène, 76
- Profiline, 173-174, 187
- Progeria, 279
- Prohormone convertase, 502
- Prohydrolase, 498-499, 502, 516-518
- Pro-insuline, 407, 501
- Prométaphase, 279, 303, 328-331, 370
- Promoteur, 243-244
 - faible, 247
 - fort, 247
- Prophase, 325-327, 329, 332, 506
- Propriété antigénique, 75
- Prostacycline, 113
- Prostaglandine, 113, 545
- Protéase, 155, 342-343, 362, 416, 501, 512, 514-515, 521, 524
- Protéine, 88
 - 1 de l'hétérochromatine, 227
 - 14.3.3, 318
 - à ancre
 - - isoprénylée, 67
 - - myristoylée, 67
 - - palmitoylée, 67
 - à domaine M9, 269
 - à motif à doigt de zinc, 253
 - à motif hélice-tour-hélice, 253
 - à traversée
 - - multiple, 65, 464
 - - unique, 64, 463
 - A1, 266
 - ABC, 514, 537
 - ABP, 213
 - acide fibrillaire, 198
 - adaptation, 402
 - adaptatrice, 131, 181, 343, 419
 - - de l'actine, 190
 - anti-apoptotique, 345
 - Apaf-1, 345
 - Arf, 399
 - Arg6, 505
 - arrimage, 121
 - assemblage, 468
 - ATM, 319
 - B6P, 153
 - bande 3, 67
 - Bap 90, 554
 - Bcl-2, 357
 - bitopique, 65
 - CapZ, 175
 - CENP-A, 302
 - CENP-B, 302
 - CENP-C, 303
 - CENP-F, 303
 - centromérique, 302
 - chaperon, 318
 - d'adhésion transmembranaire, 148
 - DBRP, 312
 - de coiffe, 187
 - de découplage, 383
 - de fasciculation, 176
 - de liaison, 173
 - - IF, 201
 - de signalisation
 - - GAP, 128
 - - GEF, 128
 - - inhibitrice Delta, 127
 - de stabilisation, 193
 - des jonctions d'ancrage
 - - intracellulaire, 148
 - - membranaire, 176
 - disulfure isomérase, 469
 - dnaA, 233
 - dnaB, 234
 - E2F, 316
 - E6, 348
 - échange, 478

- extrinsèque
- - externe, 63
- - interne, 63
- FAK, 127
- fibrillaire, 275
- G, 154
- GEF, 276
- GM 130, 327
- hétérodimérique, 175
- histone, 222
- HMG, 226
- HMW, 207
- hnRNP, 255
- inactive, 501
- INCENP, 303
- intégrale, 63
- intramembranaire, 64
- intrinsèque, 63
- kinase, 275
- - Aurora, 303
- - BUB, 333, 339
- kinétochorienne, 304
- Leu zipper, 253
- leurre, 348
- manteau
- - dépolymérisation, 396
- - recrutement, 403
- MAP, 119
- - de fragmentation, 208
- - de liaison, 208
- - déstabilisatrice, 208
- - motrice, 209
- MAP2, 356
- MAST, 209
- maturation, 501
- MHC, 472
- monomérique, 154
- monotopique, 66
- motrice, 355
- Myc, 321
- Nef, 341, 349
- N-glycosylation, 465
- non histone, 224, 299
- non ribosomale RF, 457
- nucléolaire, 289
- NUMA, 275, 560
- p115, 396
- p21, 320
- P53, 319
- p53, 288, 320, 348
- passagère des chromosomes, 303
- PCM-1, 553
- périphérique, 52, 63, 66
- peroxysomale, 539
- - d'adressage, 540
- - de translocation, 540
- polytopique, 65
- post-transcriptionnelle, 256
- pro-apoptotique, 345
- Rab, 388
- Ran, 266
- Ras, 128
- Rb, 312, 316-317
- RecA, 243
- repliement, 469
- résidente du RE, 472
- réticulation, 176
- ribosomale, 448
- RME/EHD, 435
- Sar1, 393
- sens de la synthèse, 452
- séquestration, 208
- signal NLS, 267
- *single-pass*, 278
- SMC, 275, 323
- SNARE, 392
- SR, 255
- SSB, 235
- synthèse, 285
- TAP, 269, 430
- Tim, 362
- Tir, 101
- transformante, 67
- translocation, 461
- transmembranaire, 50, 52, 63
- UCP, 379
- Protéogenèse, 451
- Protéoglycane, 76, 80, 498
- schéma général, 81
- sulfation, 501
- synthèse, 495
- Protofilament, 196-197, 203, 562-564
- Proton, 88-89, 357, 360-362, 375-378
- flux, 376
- formation du gradient, 375
- Proto-oncogène, 357
- Pseudopode, 183, 186-187, 415, 417
- PTP, 356, 361, 379-383, 415-417
- Puits recouverts, 421-429, 442
- formation, 421
- internalisation, 421
- Pulse court, 239
- Purine, 449, 534, 536, 544

Q

Q-SNARE, 392-393, 436

R

Rab, 128, 380, 390-392, 394-398, 400

Rabaptine, 437

Rabex, 437

Racine ciliaire, 562-567, 570

Radixine, 337

Raf, 118-119, 123

Raft, 62, 425

Rapport nucléoplasmatique, 220

Ras, 128

– commutateur, 393-394

– contrôle de la voie MAP-kinase, 118-119, 121, 127

Réactif de Schiff, 71

Récepteur

– à activité de la guanylate cyclase, 123

– à activité sérine thréonine-kinase, 122

– à activité tyrosine kinase, 117

– couplé aux protéines G, 115

– couplé aux sphingomyélinases, 123

– d'adhésion, 178

– d'ERD, 492, 502

– d'IP3, 477

– de Fas, 344

– de KDEL, 390

– de l'épinéphrine, 66

– de l'hormone parathyroïdienne, 527

– de l'importine α , 267

– de l'insuline, 442

– de l'ouabaïne, 87

– de la calcitonine, 527

– de la calmoduline, 158

– de la glycine, 208

– de la grande sous-unité, 461

– de la lamine B, 260

– de la mort, 343

– de la ryanodine, 477

– de la SRP, 461

– de la thyroxine, 112

– de la toxine botulique, 54

– de la transferrine, 502

– de LDL, 424

– de PAF, 137

– des cytokines, 125

– des glucocorticoïdes, 111

– des hydrolases acides, 440

– des immunoglobulines, 430

– des stéroïdes, 87, 112

– dimérisation, 118

– du CMH, 477

– du facteur de croissance épithéliale, 308

– du facteur de croissance nerveux, 117

– du facteur de transcription, 251

– du facteur nécrosant des tumeurs, 343

– du M6P, 500, 517, 522

– enzyme, 116

– intracellulaire, 108

– membranaire, 20, 108, 115, 122

– Notch, 127

– œstrogène, 111

– recyclage, 434

– RII, 122

– TKR, 120

Recyclage

– des récepteurs de surface, 432

– signal, 400

– structure des régions, 434

Régénérescence d'un axone, 199

Région

– de contrôle génique, 243

– flanquante, 244

– promotrice des gènes, 227, 243

– régulatrice distale, 244

Régulation

– de l'épissage, 252

– de l'importation nucléaire, 270

– de la glycémie, 437

– de la transcription, 251

– des échanges, 270

– du calcium cytosolique, 379

– du cycle cellulaire, 310-312, 315

– du taux de traduction, 257

– du taux de transcription, 244

– du transfert d'ARNm, 257

– hormonale, 252

– post-transcriptionnelle, 256

Rein, 100

Réparation sans excision, 242

Réplication

– bidirectionnelle, 232

– de l'ADN, 21, 231-240

– des télomères, 240

– œil, 234

– orientée, 232

– origine, 232

– semi-conservative, 232

– terminaison, 236

Réplicon, 237

Réponse Sos, 243

Répresseur, 244, 253-254

Répression

– génique, 227

- par masquage, 253
- Réseau
 - cis-golgien, 487, 490
 - trans-golgien, 487, 493, 498
- Résine époxy, 36
- Réticulation, 185
 - protéines, 176
 - viscosité du cytoplasme, 184
- Réticulum endoplasmique, 459-479
 - asymétrie de la membrane, 461
 - fonction, 461
- Rétrovirus, 28
- Ribosome, 446-459
 - biogenèse, 280
 - grande sous-unité, 447
 - mitochondrial, 366
 - petite sous-unité, 448
 - reconstruction spontanée, 451
- Roue de charrette, 565
- Rouge Soudan, 39
- Roulement du leucocyte, 137
- R-SNARE*, 392
- Rythme métachrone, 569
- S**
 - Saccule du dictyosome, 491-493
 - Sapin de Noël, 284
 - SAR, 300
 - Sar1*, 393
 - GTP, 394
 - Sarcomère, 192-193
 - Satellite
 - α , 302
 - ADN, 301-302
 - centriolaire, 553
 - des fibres musculaires striées, 134
 - SCAP, 473
 - SCF, 320
 - Sclérose latérale amyotrophique, 382
 - Second messenger, 109, 112, 125, 252, 468, 477
 - Sécurine, 333-334
 - Ségrégation nucléolaire, 291
 - Sélectine, 131, 136
 - Self*, 74
 - Séparase, 324, 333-334
 - Septine, 338
 - Séquence
 - Arg-Gly-Asp, 138
 - ARNm exonique, 255
 - autonome de réplication, 237
 - CAAT, 244
 - CEN, 301
 - codante, 33
 - d'ADN, 42
 - glycine-A-B, 75
 - KFERQ, 514
 - MAR, 278
 - NES, 266, 277
 - NLS, 265-266
 - nucléosidique, 251
 - PTS1 et PTS2, 537
 - régulatrice, 251
 - RGD, 178
 - RRE, 264
 - S/MAR, 278
 - S/T-P-R/K, 309
 - SAR, 278
 - signal, 388
 - TATA, 244
 - YSKV, 402, 502
 - SERCA, 477
 - Sérotonine, 109
 - serré, 180
 - Signal
 - d'adressage, 388
 - des molécules à trier, 502
 - d'exportation nucléaire, 265
 - d'importation, 265
 - d'internalisation, 419
 - de rétention nucléaire, 265
 - de tri
 - GYQT, 502
 - NPXY, 424
 - KFPRQ, 525
 - NLS, 267, 286
 - peptidique, 461
 - Signalisation
 - autocrine, 114
 - contact-dépendante, 114
 - de dedans en dehors, 139
 - paracrine, 113
 - synaptique, 114
 - Silencer, 253
 - Silicose, 417
 - Sillon de clivage, 337
 - Site
 - AP, 243
 - apurique-apyrimidique, 243
 - d'épissage, 256, 280
 - d'induction du complexe d'initiation, 449
 - de fixation, 109
 - de formation des liaisons peptidiques, 450
 - de liaison, 118, 299
 - de la fibronectine, 139

- de reconnaissance de l'ARNm, 449
- de réplication, 322
- de sortie de la protéine, 450
- de transcription, 255, 280
- E, 450
- GTPasique, 450
- OriC, 233
- promoteur, 247
- ribosomal, 449
- SNARE*, 518
- signification du sigle, 393
- SnoARN*, 281
- SnoRNP*, 273, 281, 283
- U3, 285
- SnRNP*, 255, 272
- Snurportine, 266
- Solénoïde, 225
- Sonde d'ADN, 42
- chaude, 42
- froide, 42
- monobrin, 42
- Sous-famille
- Bcl-2, 345
- BH3, 345
- Sous-unité ribosomale, 269
- Speckle*, 255
- Spectrine, 67, 145, 176, 180, 182-183, 201
- SPF*, 238
- Sphingolipide, 56, 61-62
- Sphingomyélinase, 123
- Sphingomyéline, 56, 478, 515
- Sphingosine, 55-57
- Spiralisation
- 1^{er} ordre, 225
- divers niveaux, 225
- Splicéosome, 255, 274
- Src*, 139
- SREBP*, 473
- SRP*, 461
- START*, 315
- STAT*, 125
- Stathmine, 208
- Staurosporine, 427
- Stéréocil, 102-103
- Stéréologie, 44
- Streptococcie, 528
- Striatine, 528
- Strie Z, 192-193
- Structure basophile, 36
- Sulfatation, 493, 497
- des glycoprotéines, 501
- des protéoglycanes, 501
- Sulfoconjugaison, 477
- Superfamille
- des cadhérines, 133
- des GTPases, 128
- des immunoglobulines, 132
- des protéines Ras, 390
- des récepteurs stéroïdiens, 111
- KIF2, 305
- Superoxyde dismutase, 200, 382
- Survivine, 303, 337
- Symport, 87-88, 91-92, 97, 361, 378, 383
- Syncytium, 219
- Syndrome
- cérébro-hépatorenal de Zellweger, 539, 547
- de démyélinisation, 159
- de Wiskott-Aldrich, 190
- MELAS, 381
- Synthèse
- cycle protéique, 367
- de l'actine, 188
- de l'amorce d'ARN, 234
- de NO, 112
- des ARN, 247-248
- des ARNr, 284
- des glycoprotéines, 496
- des hormones stéroïdes, 474
- des lipides membranaires, 58, 63
- des phospholipides, 474
- des protéoglycanes, 496
- des ribosomes, 286
- des tubulines, 204
- du brin précoce, 235
- du brin retardé, 235
- du cholestérol, 544
- du deuxième messager, 112
- du plasmalogène, 544
- Système
- endomembranaire, 22, 386-408
- roue de charrette, 551-553
- T**
- Taline, 126, 181
- Tapis roulant (*Treadmilling*), 170, 187
- Taxol, 206, 215
- Tektine, 552-553, 563
- Télomérase, 240-241
- Télomère, 224, 227, 240, 244, 251, 279, 281, 299
- Télophase, 336-337
- Territoire chromosomique, 271
- Tethering, 396
- Tétraoxyde d'osmium, 489

- TGN, 407, 493-494, 501
 Théorie endosymbiotique, 380
 Thermogenèse, 379
 Thermogénine, 379
 Thésaurismose, 529-530
 Thrombocyte, 175, 181, 190, 218, 220
 Thromboglobuline, 221
 Thromboxane, 113
 Thymosine, 173
 – β , 174
 Tige ciliaire, 562
 Tim, 362, 370
 Titine, 190, 193
 TKR, 118-121, 128
 TNF-R1, 343-345
 TNF-R2, 345
 Tom, 369
 Topo-isomérase, 236, 276
 TRADD, 344-345
 Traduction, 452-457
 – contrôle négatif, 257
 – fin, 462
 – régulation globale du taux, 257
 Transcriptase inverse, 250
 Transcription, 246-254
 – arrêt, 250, 457
 – de l'ADN
 – – eucaryote, 248
 – – procaryote, 246
 – début, 246
 – régulation, 251
 Transcytose, 430-431, 437, 520
 Transducteur, 56, 116, 125, 140
 Transduction
 – des protéines, 257
 – du potassium, 103
 – du signal, 109, 113, 139, 181
 Transition
 – de phase, 59
 – fibres, 557, 565
 – métaphase-anaphase, 332
 – phases, 59
 – – G1/S, 312
 – – G2/M, 312, 323
 – vésicule, 501
 – zone, 565
 Translocase, 63, 361
 Translocation
 – cotraductionnelle de la protéine, 462
 – de l'ARNm, 455
 – inverse, 470-472
 – protéine, 475
 – vers le noyau, 252, 264, 269
 – vers le RE, 459, 461-462
 – vers les lysosomes, 325
 – vers les mitochondries, 369, 371
 – vers les peroxysomes, 537, 540
 Translocon, 461
 Transport
 – actif, 86, 264
 – antérograde, 398
 – axonal, 210
 – de RNP, 212
 – des électrons, 476
 – des protons, 362
 – des vésicules d'endocytose, 210
 – du CGN au REG, 398
 – passif, 84, 263
 – perméatif, 84
 – rétrograde, 398
 Transporteur, 88
 – actif primaire, 86
 – électron, 362
 – secondaire, 86
 Transportine, 269
 Treadmilling (voir tapis roulant)
 Triacylglycérol, 356
 TriC, 205
 Trieur de cellules par fluorescence, 45
 Triplet, 565
 Triskélion, 403, 420
 Trisomie 21, 302
 Tropocollagène, 76
 Tropomyosine, 175, 195
 Troponine, 192, 195
 T-SNARE, 392
 Tube acrosomien, 184
 Tube contourné, 100
 Tubuline
 – α , 203
 – A2, 204
 – β , 203
 – complexe annulaire, 326
 – γ , 204, 560-561
 – GTP, 205
 – hétérodimère, 203
 Tumorigenèse, 160
 Tyrosine kinase, 117
- U**
 Ubiquitylation
 – APC, 338
 UDP
 – Gal, 496
 – galactose, 465

- N-acétylglucosamine, 465
- Uniport, 88
- Urate oxydase, 544
- Uricase, 538

V

- Vacuole
 - autophagique, 526
 - macro-autophagie (formation), 505
 - pinocytose, 521
- Vasopressine, 90, 146
- Vert Janus, 354
- Vésicule
 - clathrine, 402-404
 - COP I, 398-401
 - COP II, 393-397
- Vésiculisation, 403
- Villine, 100, 176, 179
- Vimentine, 196, 198
- Vinblastine, 206
- Vincristine, 206
- Vinculine, 126, 181
- Virion, 28
- Virus, 19, 26
 - ADN, 27-28
 - de la fièvre aphteuse, 27
 - de la mosaïque du tabac, 29
 - de la vaccine, 27
 - du sida, 348
 - Epstein-Barr, 348
 - négatif, 28
 - positif, 28
 - symétrie
 - – cubique, 28
 - – hélicoïdale, 29

Viscosité du cytoplasme, 184

Voie

- biosynthétique, 404
- d'exportation des ARN, 269
- d'importation MSF-dépendante, 369
- de dégradation, 471
- de l'exocytose, 503
- de la mort cellulaire, 343
- de la sécrétion
 - – constitutive, 503
 - – contrôlée, 503
- endosomale, 517
- Hsp70-dépendante, 369
- lysosomale, 518
- mitochondriale, 345
- Ras/MAP-kinase, 121
- sécrétoire, 404, 518
- TNF-R1 k, 344
- TNF-R2, 345

Volume nucléolaire (variation), 289

V-SNARE, 392

W

WASp, 190

Wee, 310-312

- 1, 324

Z

Zinédine, 426

ZO1, 145

ZO2, 145

Zone claire H, 192

Zonula, 143

- adherens, 148

Zonuline, 146

Hidden page

Hidden page

Hidden page

PCEM1

Biologie cellulaire

Marc Maillet

Avec la collaboration de M. Lemullois

L'OUVRAGE

L'ouvrage correspond aux orientations thématiques des enseignements : la cellule eucaryote est présentée dans sa globalité à la lumière des plus récentes découvertes. Chaque chapitre est consacré à l'étude concise, claire et approfondie d'un organe (noyau, mitochondrie, lysosome...).

Divisé en 20 chapitres, l'ouvrage comprend :

- l'essentiel du cours pour acquérir les connaissances, s'informer, réviser ;
- 350 QCM et QROC pour s'évaluer et s'entraîner aux concours.

Cette nouvelle édition a été entièrement revue par l'auteur du point de vue de la présentation dans un souci de clarté pédagogique ; son contenu a été simplifié et actualisé en fonction du programme dispensé dans les facultés ; des points clés concluent chaque chapitre et l'ensemble des exercices d'entraînement a été renouvelé.

LE PUBLIC

- Les étudiants du 1^{er} cycle des études de médecine.
- Les étudiants de pharmacie, sciences de la vie, en prépa vétérinaire ou agro.
- Les étudiants en maîtrise de sciences biologiques et médicales.
- Les professeurs de SVT du secondaire pour lesquels il constitue un ouvrage de référence.

LES AUTEURS

Marc Maillet est docteur en médecine, docteur ès sciences d'état, ex-professeur titulaire de la Chaire d'histologie, d'embryologie et de cytogénétique, ancien pasteurien, fondateur du département de microscopie électronique de la faculté de Tours, Président honoraire de l'université François-Rabelais de Tours.

Michel Lemullois, maître de conférences et enseignant en PCEM au Kremlin-Bicêtre, a collaboré à cette 10^e édition.